

**EINE SPONTAN AUFTRETENDE
IMMUNKOMPLEX - ORCHITIS
BEI BROWN - NORWAY - RATTEN**

CHRISTOPH FÜRBETH

1988

Disbui. München

1988





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Klinik Innenstadt der Universität
München

Vorstand: Prof. Dr. E. Buchborn

EINE SPONTAN AUFTRETENDE IMMUNKOMPLEX-ORCHITIS
BEI BROWN-NORWAY-RATTEN

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von
Christoph Fürbeth
aus
München

1988

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
Universität München**

Berichterstatter:

Prof. Dr. G. H. Thoenes

Mitberichterstatter:

Prof. Dr. E. Buchborn

Prof. Dr. A. Baethmann

Dekan:

Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung:

30.06.1988

INHALTSVERZEICHNIS

I.	Einführung	1
II.	Material und Methoden	3
	1. Tiere	3
	2. Operative Methoden	3
	3. Histologie	3
	4. Elektronenmikroskopie	4
	5. Immunhistologie	4
	6. Nachweis von Antikörpern	5
	7. Elution der Antikörper	5
	8. Hautteste	6
	9. Induktion einer experimentellen autoimmunologischen Orchitis	7
III.	Experimenteller Teil	9
	1. Häufigkeit und Altersverteilung der spontan auftretenden Immunkomplex- orchitis	9
	2. Vergleichende histologische, immunhistologische sowie elektronen- mikroskopische Untersuchungen	11
	3. Verlauf der Erkrankung	36
	4. Ausschluß anderer Erkrankungen	43
	5. Serologie	49

6. Elution der Antikörper aus den Immunkomplexen	52
7. Zellulär vermittelte immunologische Reaktionen	56
8. Experimentelle autoimmunologische Orchitis	58
IV. Diskussion	67
V. Zusammenfassung	71
VI. Literaturverzeichnis	72

EINFÜHRUNG

Schon 1899 haben sowohl Landsteiner als auch Metchnikoff eine Antikörperbildung gegen heterologe sowie Metalnikoff (1900) gegen autologe Spermien nachgewiesen. Erst 1951 gelang es Voisin und 1953/54 Freund, eine experimentelle autoimmunologische Orchitis unter Verwendung testikulären Gewebes zu induzieren, indem sie es in Paraffinöl zusammen mit abgetöteten Mykobakterien emulgierten und subkutan injizierten.

Seitdem zählt die experimentelle autoimmunologische Orchitis (EAO) zu den klassischen Modellen der experimentell induzierbaren autoimmunologischen Erkrankungen, an Hand derer immer wieder von neuem versucht wurde, den komplexen immunologischen Regulationsmechanismen, welche beim Ablauf einer autoaggressiven Erkrankung beteiligt sind, auf die Spur zu kommen.

Die Frage, wie es zur Schädigung des germinativen Epithels kommt, ist über die Jahre hinweg sehr unterschiedlich beantwortet worden. Einerseits wurden Antikörperwirkungen favorisiert (Katsch 1970, Brown 1963, Pokorna 1963), andererseits vorwiegend zellulär vermittelte Abläufe (Waksman 1959, Tung 1971/1977/1981, Sato 1981), oder auch beides kombiniert (Brown 1967). Man versuchte, mit Hilfe histologischer Untersuchungen bzw. mit dem Transfer von Serum sowie von Zellen sensibilisierter Tiere den einen oder den anderen Weg zu beweisen.

Während eine eindeutige Induktion der Erkrankung mit den Mitteln des Serumtransfers nur bei gleichzeitiger Verwendung von CFA gelang (Pokorna 1970, Willson 1972, Toulett 1976), konnte eine Übertragung der Erkrankung allein durch lymphatische Zellen sicher nachgewiesen werden (Tung 1971, 1977, Bernard 1978, Kantor 1972).

In letzter Zeit wurde aber hier besonders auf die entscheidende Rolle der B-Lymphozyten beim Zelltransfer hingewiesen (Hiramine 1984). Auch eine Beteiligung genetischer Faktoren an den gegen eigene testikuläre Elemente

gerichteten immunologischen Reaktionsmechanismen wurde bei verschiedenen Spezies nachgewiesen (Bigazzi 1977, Bernard 1978, Takami 1982, Teuscher 1985 a/b).

Man hat versucht, das Autoantigen durch Fraktionierung des Hodengewebes zu charakterisieren und damit den Angriffspunkt der Erkrankung zu definieren (Toulett 1972, Hagopian 1975, Teuscher 1983, Denduchis 1978, Lustig 1982).

Grundlegende Fragen der Selbsttoleranz (Wekerle 1977, 1978) und ihrer Aufrechterhaltung wurden an dem Modell der EAO untersucht. (Brown 1963, Chutna 1964, Hojo 1982, Hiramine 1984).

Da jedoch diese experimentelle Erkrankung nicht ohne weiteres einer Erkrankung beim Menschen vergleichbar ist, richtete sich der Blick auf andere Induktionsmöglichkeiten einer EAO (Rappaport 1969, Sanui 1983, Taguchi 1981, Sakamoto 1985). Auch spontan auftretende Erkrankungen der Hoden bei Tieren wurden beobachtet (Fritz 1978, Dooher 1981, Tung 1980). Bei letzteren blieb jedoch der Nachweis einer autoimmunologischen Ursache problematisch. 1982 beschrieben Salomon und Hedinger Immunkomplexe im Bereich der Tubuli seminiferi von Patienten mit Fertilitätsstörungen. Damit stellte sich die Frage, welche Rolle Immunkomplexe bei den zur Infertilität führenden Hodenerkrankungen spielen. Besonders bei Nierenkrankheiten ist die Immunkomplexpathogenese lange bekannt (Dixon 1958, 1961, Couser 1985), aber auch an der Schilddrüse kommen Immunkomplexe vor.

Diese Arbeit berichtet über eine Immunkomplex-Pathogenese am Hoden von Ratten. Im Verlauf von ersten Untersuchungen, die der genetischen Determinierung der EAO dienen sollten, wurde bei einem der Inzuchtstämme -Brown Norway (BN) eine offensichtlich spontan auftretende Hodenatrophie beobachtet, die von Immunedots begleitet ist und die der von Salomon und Hedinger (1982) beschriebenen Beobachtung beim Menschen ähnlich ist.

II. MATERIAL UND METHODEN

1. Tiere

Alle untersuchten Tiere gehören dem Brown Norway (BN) Stamm an, welcher schon seit ca. 18 Generationen in dem Tierstall des Immunbiologischen Laboratorium der Medizinischen Klinik Innenstadt der Universität München gezüchtet wird. Dieser Inzuchtstamm hat das Histocompatibilitätsallel $Rt - 1^N$. Es fanden jeweils Tiere ausgewählter Altersklassen Verwendung.

2. Operative Methoden

Sämtliche operativen Eingriffe wurden in Ätherinhalationsnarkose durchgeführt. Die unilaterale Orchidektomie wurde in folgender Weise vorgenommen:

Nach einem 3 mm paramedian ausgeführten Hautschnitt von 5 mm Länge und sich daran anschließender Durchtrennung der verschiedenen Fascien, wurden Hoden und Nebenhoden nach außen verlagert, während gleichzeitig die Verbindungen zum Musculus cremaster gelöst wurden. Nach Unterbindung und Durchtrennung des Funiculus spermaticus erfolgte die Rückverlagerung des proximalen Teils und der Verschluss der Skrotalhaut mittels Einzelknopfnähten. Blutentnahmen erfolgten entweder nach einem Hautschnitt aus der Vena femoralis, oder unmittelbar vor der Sektion, aus der Vena cava.

3. Histologie

Jeder entnommene Hoden wurde für histologische und immunhistologische Untersuchungen, viele auch für die elektronenmikroskopische Befunderhebung vorbereitet. Für die

lichtmikroskopische Beurteilung wurde das Gewebe in Susa, gefolgt von Alkohol, (96%) fixiert (Romeis 1964). Nach Einbettung in Paraffin wurden 4 µm-dicke Schnitte angefertigt und mit HE (Hämatoxylin-Eosin) angefärbt. Die gesamte histologische Technik wurde von mir ausgeführt.

4. Elektronenmikroskopie

Unmittelbar nach Entnahme eines Hoden wurde ein Teil für 45 Minuten in phosphatgepufferter 7,5% Glutaraldehydlösung (ph 7,2) anfixiert. Nach nun folgender Zuschneidung des Gewebes in Würfelform von ca. 1 mm Kantenlänge wurde für weitere 45 Minuten in Glutaraldehydlösung eingebracht. Daran schlossen sich mehrmalige Spülungen mittels Saccharose an. Nach Dehydrierung erfolgte die Einbettung in Epon 812.

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden freundlicherweise von Prof. Dr. G. Hübner am Pathologischen Institut der Universität München, durchgeführt.

5. Immunhistologie

Das Gewebe wurde in Flüssig-Stickstoff gekühlten Isopentan schockgefrorenen. Zur Herstellung von 4 µm Schnitten wurde ein Kryostat-Mikrotom verwendet. Die Schnitte wurden auf Objektträgern unter kühlem Föhn getrocknet und anschließend 30 Minuten in phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) gewässert. Nach Überschichtung mittels Fluorescein-Isothiocyanat konjugierter Antiseren (Fa. Cappel) erfolgte eine 30 minütige Inkubation der Präparate in einer feuchten Kammer. Nach dem Abspülen der Antiseren Wässerung in PBS von 60 Minuten Dauer. Eindecken mit Glycerin-PBS (1:9). Die Immunfluores-

zenz-Betrachtung erfolgte an einem Zeiss Mikroskop mit Auflichtbeleuchtung. Fotodokumentation auf Kodak Ektachrom Diafilm (Tageslicht) EPD.

6. Nachweis von Antikörpern

Die durch Ausstreichen des Nebenhoden gewonnenen Spermien wurden nach vier-maligem Waschen in einer 0,9% NaCl-Lösung (jeweils 10 Minuten bei 1000 g), auf einem Objektträger ausgestrichen und luftgetrocknet. Daran schloß sich eine Fixierung in Methanol von 20 Minuten an. Bis zum Gebrauch wurden die Präparate tiefgefroren aufbewahrt.

Die Indirekte Immunfluoreszenz wurde in folgender Weise durchgeführt:

Spermienausstriche oder Gefrierschnitte von Hoden-Normalgewebe wurden 30 Minuten in PBS gewässert und dann für 30 Minuten mit dem zu untersuchenden Serum (Verdünnungsstufen: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16) inkubiert. Nach erneutem Abspülen sowie anschließendem 60-minütigem Wässern in PBS erfolgte eine Überschichtung mit FITC Anti-Ratten IgG (Cappel Laboratories, Cochrane) von für 30 Minuten. Nach erneutem Abspülen sowie anschließendem 60-minütigen Wässern in PBS, wurden die Präparate mit einer PBS gepufferter Glycerinlösung eingedeckt und unter Auflichtbeleuchtung an einem Zeiss Mikroskop deren Immunfluoreszenz untersucht.

7. Elution der Immunglobulindepots

Das Hodengewebe wurde, nach Entfernung der Kapsel, mit einem Ultra Turrax homogenisiert sowie 3 mal in PBS gewaschen (20 Minuten Zentrifugation bei 1200 g). Anschließend wurde das Sediment bei Raumtemperatur unter ständigem Rühren mit 0,02 m Citratpuffer (ph 3,2) im Verhältnis von 10 Teilen Puffer zu einem Teil des Sedi-

menten für 90 Minuten inkubiert. Nach Zentrifugation (2000 g für 20 Minuten Dauer), folgte Neutralisation mit 0,1 m NaOH sowie sich daran anschließender 20-fache Konzentrierung des Eluates mittels eines Amicon Filters. Mit diesem Eluat wurden Spermienausstriche sowie tiefgefrorene Testikelschnitte mit der indirekten Immunfluoreszenz untersucht.

Es wurde jeweils das Gewebe von Tieren mit immunhistologisch positiven wie negativem Befund im Bereich der Tubuli seminiferi parallel nach dieser Methodik aufgearbeitet.

Zur Erarbeitung dieses Verfahrens fanden die Arbeiten von Lerner 1967, Bigazzi 1976, Woodroffe 1977 sowie Tung 1978 Verwendung.

8. Hautteste

Intracutan im Bereich der Bauchhaut von Ratten wurden jeweils 0,1 ml von verschiedenen Antigenpräparationen injiziert. Eine Überprüfung der Teste bezüglich Rötung und Induration der betroffenen Hautstelle wurde nach 2, 4, 6, 12, 24, 48 sowie 72 Stunden durchgeführt.

Folgende Präparationen fanden Verwendung:

1. Salinischer Extrakt von Hodengewebe
Testikuläres Gewebe wurde, nach Zufügung eines gleichen Gewichtsanteils 0,9% NaCl-Lösung homogenisiert (Ultra Turrax) und anschließend für 20 Minuten bei 2000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde verwendet.
2. Das aus Rattenhoden gewonnene "Ammoniumsulfat präzipitierte Material" (ASPM) war von Mengel (Kinderchirurgie München) vor einigen Jahren im Labor nach der von Freund 1955 beschriebenen Methodik

angefertigt worden. 2 mg dieses gefriergetrockneten Materials wurde in jeweils 0,1 ml einer 0,9% NaCl-Lösung gelöst.

3. Suspension testikulärer Zellen

Frisches Testikelgewebe wurde, nach Entfernung der Kapsel vorsichtig mit dem Ultra Turrax zerkleinert und ein gleich großer Gewichtsanteil einer 0,9% NaCl-Lösung zugefügt. Diese Zellsuspension wurde nun, um größere Zellfragmente zu entfernen, durch eine zweifache Gazeschicht passiert. Es fand jeweils 0,1 ml dieser Präparation Verwendung.

4. Suspension von Parotis-Zellen

Hergestellung wie unter 3.

9. Induktion einer experimentellen autoimmunologischen Orchitis

Es fanden folgende Antipräparationen Anwendung:

ASPM/Ratte, ASPM/Schwein

Die jeweils benötigte Menge des aus Ratten- bzw. Schweinetestikelhomogenat gewonnenen "Ammoniumsulfat präzipitierten Materials" (ASPM/R, ASPM/S), wurde in einer 0,9% NaCl-Lösung suspendiert sowie anschließend mit gleichem Anteil Inkompletten Freud'schen Adjuvans (IFA), welchem abgetötete Tuberkelbakterien (Mykobakterium Tuberculosis H 37 RA DIFCO Labs. Detroit) zugegeben wurde versetzt und über einen 3-Wege-Hahn in Spritzen solange emulgiert bis die Emulsion bei der Wasserprobe (Tropfen auf Wasseroberfläche) stabil war. Jede Tier erhielt 0,4 ml der Emulsion mit 5 mg ASPM und 4 mg Tuberkelbakterien subcutan.

Syngenes Testikelhomogenat (STH)

Diese, von mehreren Autoren (Mancini 1962, 1966, Johnson 1970, 1973, Mazzoli 1971, Pokorna 1969/1970, Sato 1981) verwendete Antigenpräparation wurde von genetisch identischen Ratten (BN) gewonnenen und wie oben beschrieben homogenisiert und emulgiert. Jedem Tier wurde 1 ml dieses Gemisches, welches 250 mg Hodengewebe, 0,25 ml einer 0,9% NaCl-Lösung, 0,5 ml IFA sowie 4 mg abgetötete Tuberkelbakterien enthielt, in 4 Depots injiziert. Unter Berücksichtigung der sich auf den Applikationsort beziehenden Untersuchungsergebnissen von Freund 1953/1954 wurde folgendes Vorgehen gewählt:

Die Antigenpräparation wurde jeweils in der oberen Hälfte des Rückens beidseits der Wirbelsäule in eindeutig subcutaner Weise injiziert. Es wurde stets darauf geachtet, daß der Stichkanal länger als 1 cm war. Jedem Tier wurde zusätzlich eine Dosis von 0,5 ml einer B. pertussis Vaccine (Behring-Werke AG) subcutan verabreicht.

Die Suspension enthielt 3×10^9 Keime pro ml.

III. EXPERIMENTELLER TEIL

1. Häufigkeit und Altersverteilung der spontan auftretenden Immunkomplexorchitis

Zuerst stellte sich die Frage, welcher prozentuale Anteil des betroffenen Ratteninzuchtstammes den Immunkomplexbefund im Bereich der Basalmembran der Tubuli seminiferi aufwies. Von besonderer Bedeutung war außerdem die Frage, ob es sich um einen altersabhängigen Prozeß handelte, wie dies für einige autoimmunologischen Erkrankungen beschrieben ist (Good 1974, Theofilopoulos 1985).

Tiere zwischen der 4. und 75. Lebenswoche wurden untersucht. Bei 37 BN-Ratten wurden beide Hoden, bei den übrigen Tieren jeweils nur der rechte einer immunhistologischen Auswertung zugeführt.

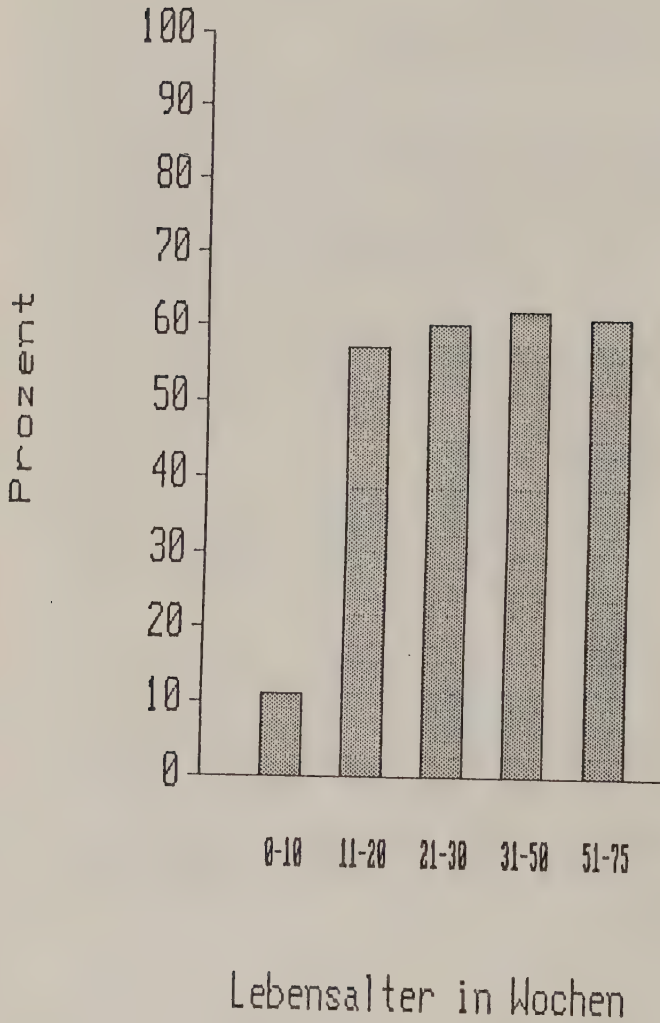
Der früheste Zeitpunkt, zu dem Immunkomplexe im Bereich der tubulären Basalmembran feststellbar wurden, war etwa der 50. Tag. 14 zu einem früheren Zeitpunkt untersuchte Tiere, wiesen einen eindeutig negativen immunhistologischen Befund auf.

Schon zwischen der 10. und 20. Lebenswoche konnte man bei 57% aller BN-Ratten Immunkomplexe im Bereich der tubulären Basalmembran nachweisen. Zwischen der 20. und 30. Lebenswoche handelte es sich um 60% Träger von Immunkomplexen. Bis zur 75. Lebenswoche konnte dann keine weitere Zunahme mehr gesehen werden. Die Befunde waren bei den Tieren, die beidseitig untersucht wurden, gleichartig ausgebildet.

Graphik I



Immunkomplexträger

 $n = 178$

Der prozentuale Anteil von ca. 60% der Tiere des BN-Rattenstammes, welche einen positiven immunhistologischen Befund aufweisen, entspricht der beschriebenen Erkrankungshäufigkeit anderer Tierstämme mit autoimmunologischen Erkrankungen. So erkrankten 60 Prozent eines Inzuchtstammes chinesischer Hamster (Gerritsen 1974) an einem spontan auftretenden Diabetes ebenso wie zwischen 60 und 75 Prozent der BB/Ratten - welche eine dem humanen juvenilen Diabetes sehr ähnliche Erkrankung entwickeln - Entzündungszeichen im Bereich der Langerhans'schen Inselzellen zeigen. (Rossini 1983, Laupacis 1983).

Bei diesen beiden Erkrankungen ist nach einem zeitlich begrenzten Lebensabschnitt im jugendlichen Alter, in welchem sie manifest werden, kein weiteres Ansteigen der Erkrankungsinzidenz zu verzeichnen. Gleiches gilt auch für den prozentualen Anteil der Tiere des BN Rattenstammes, welcher einen positiven immunhistologischen Befund im Bereich der Tubuli seminiferi aufweist. Schon zwischen der 10. und 20. Lebenswoche erreicht die Inzidenz praktisch das Maximum. Da andererseits vor der 8. Lebenswoche kein positiver immunhistologischer Befund beobachtet werden konnte, kann man annehmen, daß die Immunkomplexe in einem eng begrenzten Zeitraum, zwischen der 8. und 12. Lebenswoche, abgelagert werden. Dieser Überlegung wird im Abschnitt "Verlauf der Erkrankung" durch die zeitlich versetzte Entnahme beider Hoden individueller Tiere nachgegangen.

2. Vergleichende histologische, immunhistologisch sowie elektronenmikroskopische Untersuchungen

Ziel dieses Teils der Arbeit ist es, die genaue Lokalisation der Immunkomplexe festzustellen. In Betracht kommen Zellschichten und basalmembranähnlichen Strukturen, die die Tubuli seminiferi unmittelbar umgeben, sowie inter- bzw. intratubulären Räume. Da die Ursache Immunkomplex-

entstehung auch bei den BN-Ratten unklar ist, sollte versucht werden zu zeigen, ob Ähnlichkeiten zu der Erkrankung des Menschen zu erkennen sind, wie sie 1982 von Salomon und Hedinger bei Männern mit Fertilitätsproblemen beschrieben wurde. Weitere Vergleiche sind zu ziehen zu den durch Vasoligation im Rahmen einer Orchitis bei Kaninchen auftretenden Befunden (Bigazzi 1976). Ein weiteres Modell ist die Orchitis bei schwarzen Nerzen mit sekundärer Infertilität (Tung 1980), die ebenfalls mit immunhistologischen Befunden verbunden sind. Bei der experimentell induzierten Orchitis ist, wenn auch nur sehr selten, das Auftreten von Immunkomplexen im Rahmen einer entzündlichen Reaktion beobachtet worden. (Tung 1978, Khono 1983, Taguchi 1981).

Jeweils ein Hoden von BN-Ratten zwischen der 6. und 75. Lebenswoche wurde elektronenmikroskopisch, histologisch und immunhistologisch untersucht.

Fünf unterschiedliche Befundmuster konnten im immunhistologischen und elektronenmikroskopischen Bild abgegrenzt werden. Aus weiter unten dargestellten Gründen werden diese Muster als Ausdruck stadienmäßiger Entwicklung betrachtet. Die Altersverteilung dieser Stadien ist in Graphik II dargestellt.

Stadium I

(Durchschnittsalter: 14 Wochen)

Immunhistologie

Im Bereich der Basalmembran sämtlicher Tubuli seminiferi zeigen sich kleine Immunkomplexe, die unregelmäßig verteilt sind. Häufig läßt sich eine kurzstreckige, strich- bzw. fadenförmige Fluoreszenz beobachten. Die Größe der Depots ist relativ gleichförmig und nur selten sieht man etwas größere, ovale Depots (Abb. 1).

Elektronenmikroskopie

Im elektronenmikroskopischen Bild läßt sich kein sicheres Korrelat zu den sehr kleinen Immunglobulindepots oder zu der zarten, fadenförmigen Fluoreszenz im Bereich der Basalmembran finden. Die größeren, längsovalen Depots dagegen sind deutlich als Flecken mit mäßig starker Elektronendichte in der interstitiellen Lamina densa der myoiden Zellen zu erkennen (Abb. 2). Die Basalmembran weist in diesem Bereich einen leicht geschlängelten Verlauf auf, ist jedoch an keiner Stelle eindeutig verbreitert. Sertolizellen befinden sich ebenso wie Spermato gonien in regelrechter Position und weisen keine morphologischen Besonderheiten auf. Auch im Bereich des germinativen Epithels, in dem sich die verschiedenen Spermatozyten- sowie Spermatidenstadien erkennen lassen, fallen keine pathologischen Veränderungen auf. Die Interzellularräume erscheinen ebenfalls nicht verbreitert.

Das lichtmikroskopische Bild des Stadium I entspricht dem in Stadium II beschriebenen Befund.

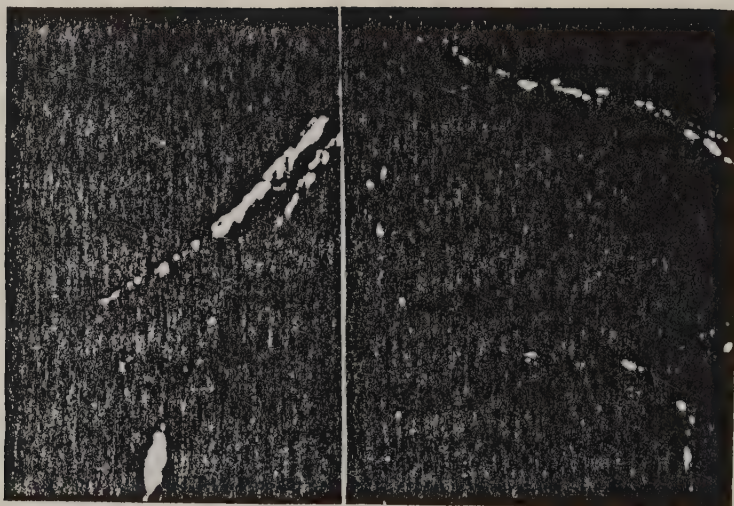
STADIUM I

Abb. 1

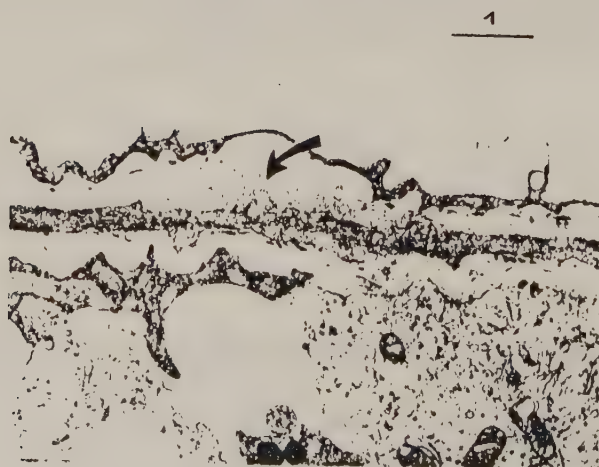


Abb. 2

Stadium II

(Durchschnittsalter: 16 Wochen)

Immunhistologie

Die in einer Reihe angeordneten Immunkomplexe umgeben in einer oft perlenkettenartig imponierender Anordnung alle Tubuli seminiferi (Abb. 5). Sie lassen sich vorwiegend an der interstitiellen Seite der Basalmembran, die an das Zytoplasma der germinativen Zellen grenzt, lokalisieren (Abb. 3).

Elektronenmikroskopie

Die Immunkomplexe lassen sich hier sehr deutlich im Bereich zwischen Basalmembran der Tubuli seminiferi (Lamina interna) und der basalmembranähnlichen, die peritubulären myoiden Zellen einschließenden Schicht, erkennen. Mitunter scheinen sie auch in dieser zu liegen. Hinsichtlich der Anordnung bestätigt sich das im immunhistologischen Bild zu beobachtende Auftreten der Immunkomplexe in einer Reihe bzw. in perlenkettenartiger Weise (Abb. 4). Die Basalmembran (Lamina interna) weist in diesem Bereichen noch einen glatten Verlauf auf. Es läßt sich auch keine wesentliche Verbreiterung der übrigen, den Bereich der Basalmembran bildenden Strukturen erkennen. Spermatogonien lassen sich wie Sertolizellen in regelrechter Anordnung beobachten. Eindeutige pathologische Veränderungen treten nicht in Erscheinung. Auch im Bereich des germinativen Epithels, in dem primäre und sekundäre Spermatozyten sowie Spermatoide zu erkennen sind, ergibt sich, kein Anhalt für wesentliche pathologische Veränderungen. Die Interzellularräume bzw. -verbindungen erscheinen völlig unauffällig. Die im intertubulären Raum gelegenen Gefäße sind von in normaler Anzahl auftretenden, morphologisch unauffälligen Ley-

dig'schen Zwischenzellen umgeben.

Lichtmikroskopie

Lichtmikroskopisch erkennt man eine ungestörte tubuläre Architektur, welche durch gleichmäßig große, runde Tubuli mit dünner, konvex aufgespannter Basalmembran, gekennzeichnet ist (Abb. 6). Atrophische Tubuli kommen nicht vor. Der Durchmesser der Tubuli seminiferi ist bei immunhistologisch positiven wie negativen Tieren gleich. Zahl und Position der Sertolizellen sind normal, ihre Form zeigt keine Abweichung von der Norm. Spermatogonien sowie sämtliche Stadien der Spermatozyten sind regelrecht vorhanden.

Tubuli seminiferi in allen wesentlichen Stadien (I -XIV) des Zyklus des germinativen Epithels sind in sämtlichen Präparaten nachweisbar (Leblond und Clemon 1952).

Ebenso sieht man alle entscheidenden Phasen der Spermatogenese (1 - 19). Die Spermatogenese ist zwar in vollem Gange, aber, wohl altersentsprechend, (überwiegend 10. - 20. Woche) erst in mittelgradigem Ausmaß. Das intertubuläre Gewebe tritt nur zart in Erscheinung. Dünnwandige Gefäße kleinen Kalibers sind jeweils von einigen Leydig'schen Zwischenzellen umgeben.

Eine intra- bzw. intertubuläre Zellinfiltration mit ortsfremden Zellen kann man in keinem der Präparate beobachten.

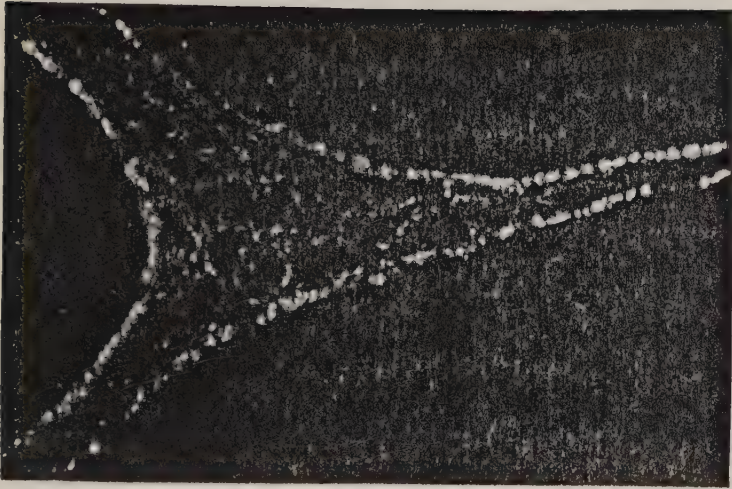
STADIUM II

Abb. 3

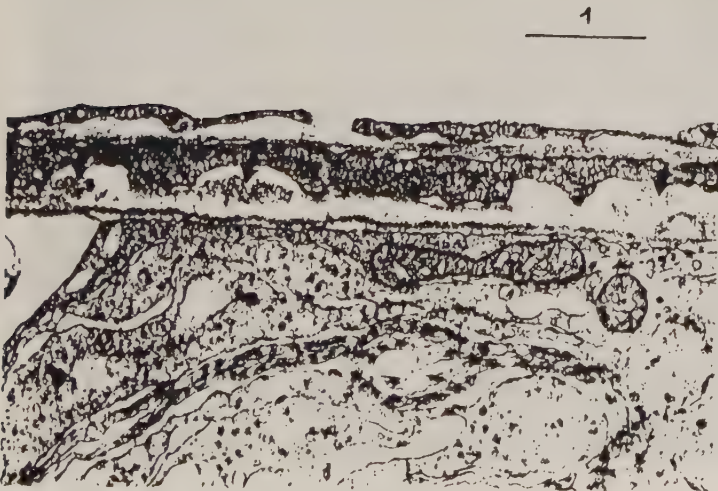


Abb. 4

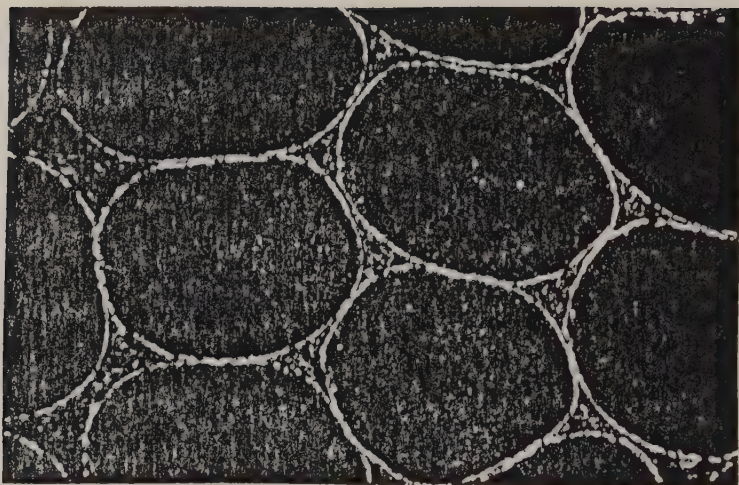
STADIUM II

Abb. 5

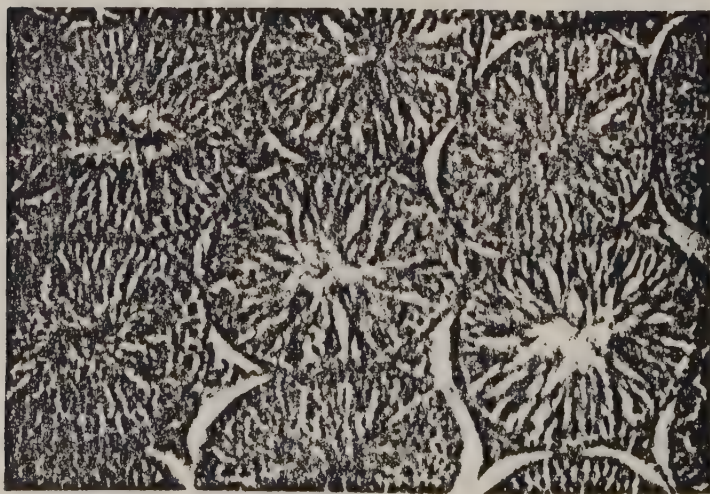


Abb. 6

Stadium III

(Durchschnittsalter: 28 Wochen)

Immunhistologie

Alle Tubuli seminiferi sind von einem grobgranulären Band von Immunkomplexen umgeben (Abb. 9). Die Depots weisen unterschiedliche Größe auf und durchsetzen den gesamten Bereich der Basalmembran (Abb. 7). Auch Vorwölbungen in das germinative Epithel können beobachtet werden.

Elektronenmikroskopie

Die Immunkomplexe befinden sich sowohl zwischen Basalmembran der Tubuli seminiferi und myoider Zellschicht, als auch im Bereich der äußeren, dem interstitiellen Raum zugewandeten basalmembranähnlichen Einscheidung dieser Zellen. Sie weisen unterschiedliche Form und Elektronendichte sowie eine gleichmäßig feingranuläre Struktur auf. Die Basalmembran wölbt sich im Bereich der Immunkomplexe deutlich in das germinative Epithel vor (Abb. 8). Sowohl in Präparaten immunhistologisch positiver wie negativer Tiere, weisen die Sertolizellen vermehrt sekundäre Lysosomen sowie einzelne Einstülpungen der Kernmembran auf. Eine Vakuolisierung läßt sich nicht beobachten. Im Bereich des germinativen Epithels fallen keine pathologischen Veränderungen auf. Auch die Interzellularverbindungen der Sertolizellen untereinander sowie zu den Zellen des germinativen Epithels erscheinen unauffällig.

Lichtmikroskopie

Alle Präparate weisen eine erhaltene tubuläre Architektur auf. Eine Verdickung oder Fältelung der Basalmembran läßt sich lichtmikroskopisch nicht nachweisen. Die Ser-

tolizellen sind ebenso wie die Spermatogonien nicht verändert. Es lassen sich sämtliche Differenzierungsstufen der Spermatozyten nachweisen. Alle Stadien des Zyklus des germinativen Epithels treten auf, und die Spermatogenese ist mit allen Stadien nachweisbar.

Im intertubulären Raum erscheinen die Gefäße geringgradig erweitert, jeweils von einigen Leydig'schen Zwischenzellen umgeben. Ebenso fällt ein gering vermehrter intertubulärer Zellgehalt auf. Es finden sich einzelne Lymphozyten. Diese Veränderungen sind in gleicher Weise bei immunhistologisch positiven wie negativen Tieren zu finden, so daß sie nicht sicher dem pathogenetischen Prozeß zugeordnet werden können. Eine stärkere Infiltration mit lymphoiden Zellen bei Tieren mit positivem immunhistologischem Befund ist nicht zu erkennen (Abb. 10).

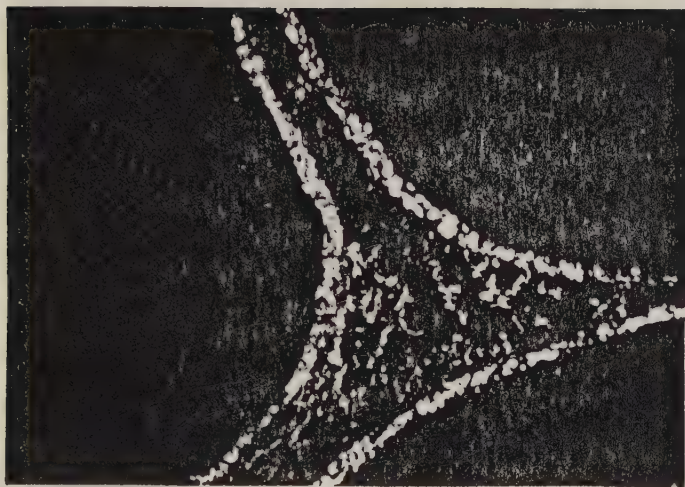
STADIUM III

Abb. 7

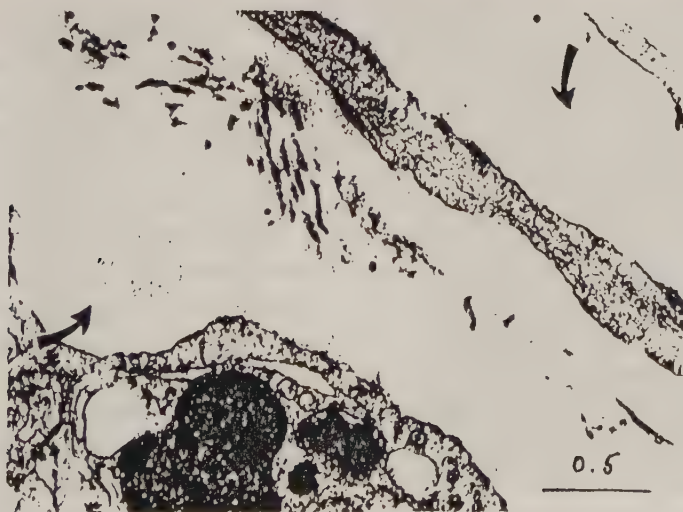


Abb. 8

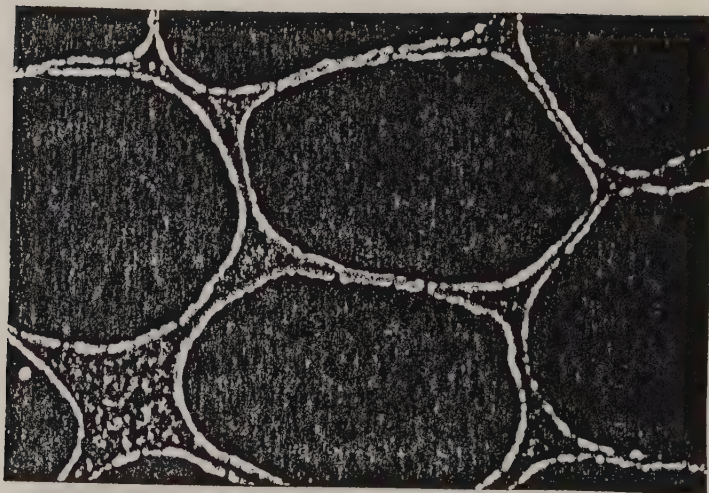
STADIUM III

Abb. 9

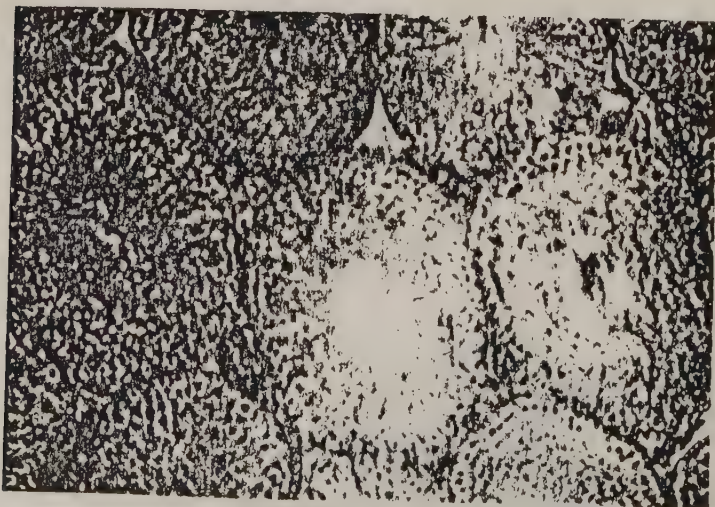


Abb. 10

Stadium IV

(Durchschnittsalter: 40 Wochen)

Immunhistologie

Alle Tubuli seminiferi sind von einem breiten Band grobgranulärer Immunkomplexe umgeben (Abb. 13). Die Lokalisation der Immundepots in Bezug auf die Basalmembran ist nicht mehr bestimmbar, da sie einen bandartigen Bereich füllen (Abb. 11).

Elektronenmikroskopie

Die den Tubuli seminiferi direkt anliegende Basalmembran weist starke Vorwölbungen zum germinativem Epithel hin auf. Massenhaft Immunkomplexe sind zu erkennen (Abb. 12). Auch die äußere Einscheidungsschicht der myoiden Zellen zeigt eine ausgeprägte Faltenbildung, in der ebenso Immunkomplexe zu beobachten sind. Die Immunkomplexe sind wie in den anderen Stadien weitgehend gleichmäßig feingranulär, teils unterschiedlicher Elektronendichten. Im Bereich des jetzt weitgehend desorganisierten germinativen Epithels sind die Sertolizellen in atypischer - von der Basalmembran abgehobener - Position lokalisierbar. Ihre Kerne zeigen tiefe Einwölbungen der Kernmembran sowie randständiges Kernchromatin. Die sonst üblicherweise gut zu sehenden Nukleoli sind kaum noch zu erkennen. Im Zytoplasma der Sertolizellen treten größere Vakuolen auf. Weder Spermatide noch Spermien, auch keine einzelnen Spermatozyten oder Spermatogonien sind zu sehen.

Im inter- bzw. intratubulären Raum läßt sich eine massive Infiltration von Lymphozyten, Plasmazellen und einzelnen eosinophilen Granulozyten beobachten. Man sieht außerdem zahlreiche Makrophagen mit ausgeprägten Lysosomen. Eine extensive Vermehrung bzw. Neubildung basalmembran-

ähnlicher Schichten bestimmt neben der Zellinfiltration das Bild.

Lichtmikroskopie

In diesem Stadium weisen die Präparate schwerste Veränderungen der tubulären Architektur auf. In einigen Fällen sind nur noch stark atrophische Tubuli seminiferi zu sehen. Man sieht nur wenige Sertolizellen mit großen zytoplasmatischen Vakuolen. Nur vereinzelt trifft man auf Spermatogonien. Spermatozyten sowie Spermatide und Spermien fehlen (Abb. 14). Stellenweise erkennt man eine massive inter- bzw. intratubuläre Infiltration von Lymphozyten, Plasmazellen sowie vereinzelt eosinophilen Granulozyten (Abb. 15, 16). Auch Makrophagen treten auf. Die Basalmembran zeigt neugebildete Schichten. Die Gefäße sind in diesen Bereichen weitlumig. In den atrophischen Bereichen ist neben einer relativen Vermehrung der Leydig'schen Zwischenzellen nur noch eine geringe Infiltration von vornehmlich Lymphozyten zu beobachten. Intratubulär lassen sich hier mitunter mehrkernige Reiszellen beobachten.

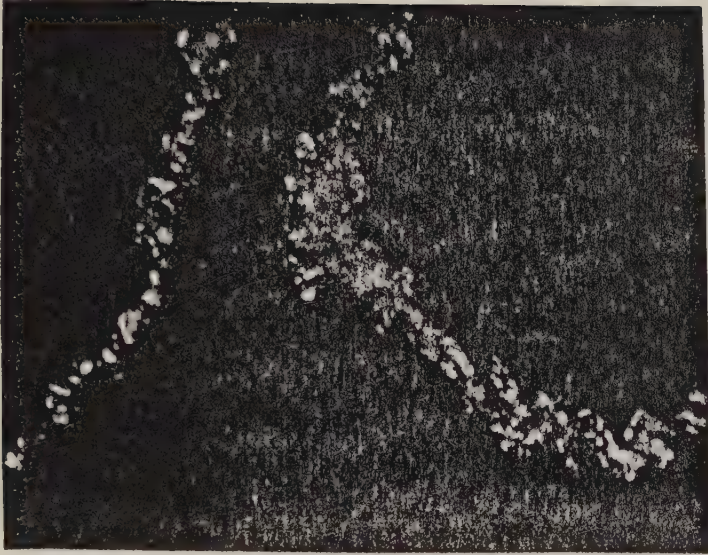
STADIUM IV

Abb. 11

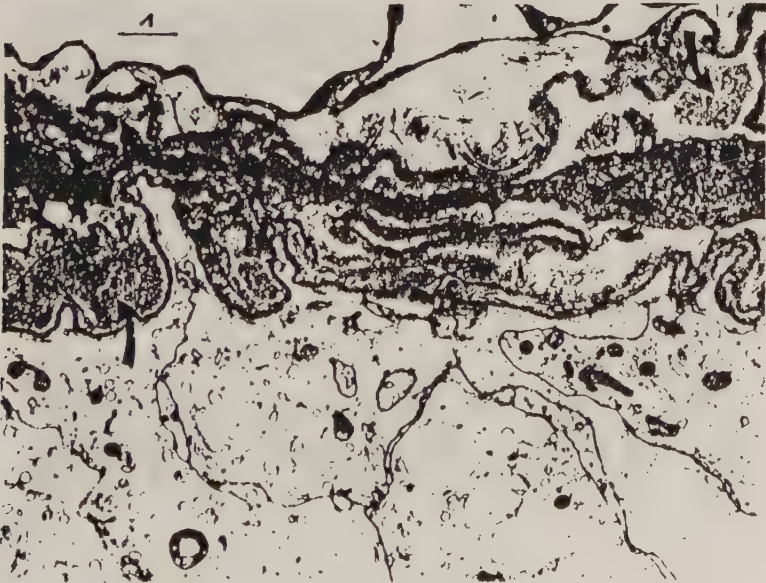


Abb. 12

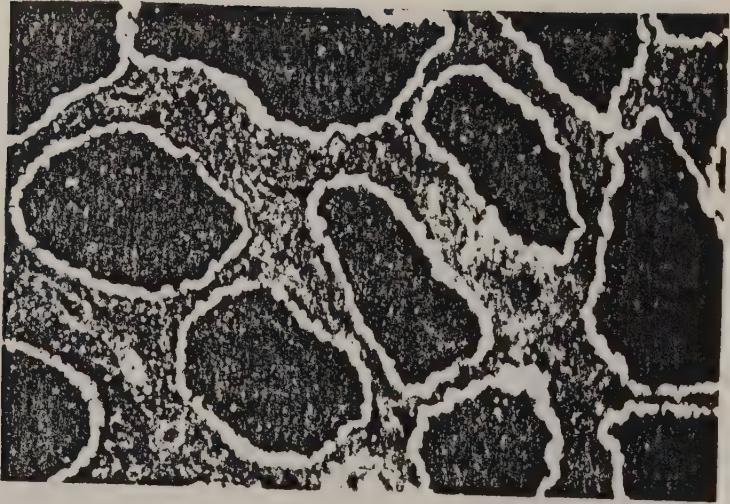
STADIUM IV

Abb. 13

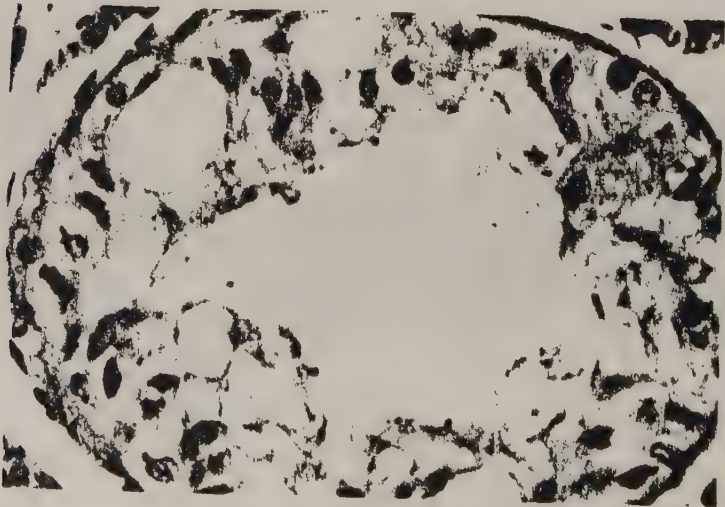


Abb. 14

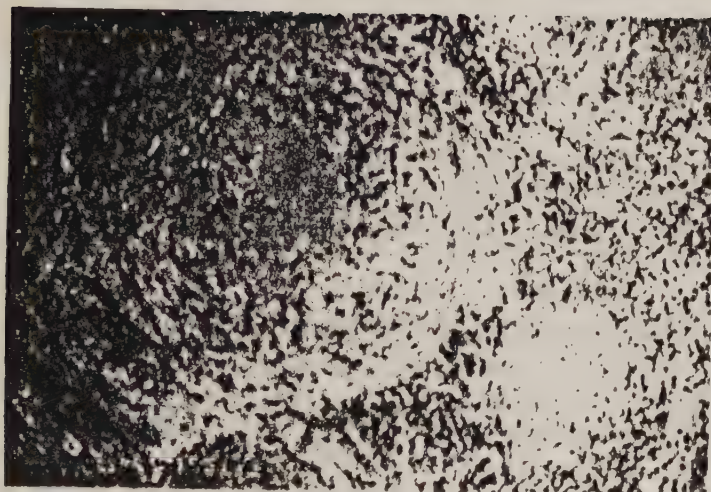
STADIUM IV

Abb. 15

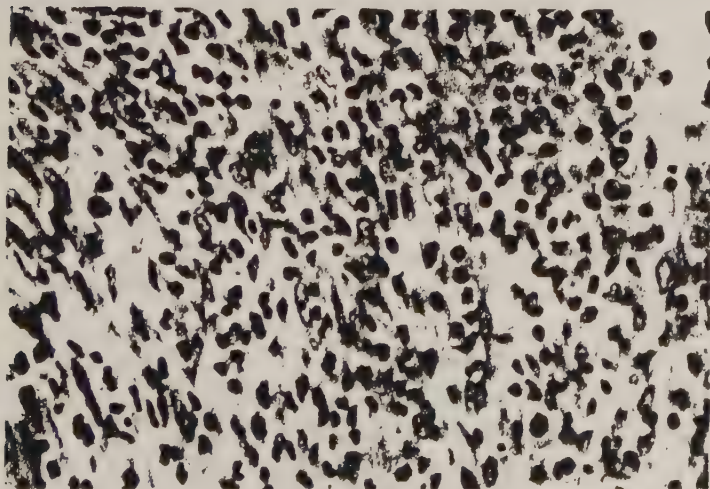


Abb. 16

Stadium V

(Durchschnittsalter: 48 Wochen)

Immunhistologie

In diesem Stadium ist der Bereich der Basalmembran immunhistologisch überwiegend negativ. Immer wieder können jedoch einzelne größere oder kleinere Immunkomplexe beobachtet werden. Man hat hierbei den Eindruck von "zerfallenden" oder "sich auflösenden" Immunkomplexen (Abb. 17, 19).

Das immunhistologisch definierte Stadium V kann sowohl bei Präparaten, welche eine weitgehend zerstörte tubuläre Architektur aufweisen, als auch bei vollständig erhaltenem Gewebsaufbau beobachtet werden.

A) Organ mit weitgehend zerstörter tubulärer Architektur

Elektronenmikroskopischer Befund

Ähnlich wie in Stadium IV weist die Basalmembran ebenso wie die Lamina der myoiden Zellen eine ausgeprägte Faltenbildung auf, doch können Immunkomplexe nicht sicher nachgewiesen werden. Statt der erwarteten Immunkomplexe ist im Gegensatz hierzu an gleicher Lokalisation lockeres, wenig elektronendichtes Material zu sehen, so daß immer wieder der Eindruck entsteht, als handele es sich um Reste von Immunkomplexen (Abb. 18). Die sonstigen pathologischen Veränderungen entsprechen hinsichtlich der Destruktion des germinativen Epithels, der Zellinfiltration, sowie der Schichtneubildung weitgehend den im Stadium IV schon beschriebenen Veränderungen. Der lichtmikroskopische Befund deckt sich weitgehend mit den in

Stadium IV beschriebenen pathologischen Veränderungen (Abb. 21).

B) Organ mit intakter tubulärer Architektur

Elektronenmikroskopie

Zwischen der glatt verlaufenden, altersgemäß verbreiterten Basalmembran (Lamina interna) und der Schicht der myoiden Zellen, lassen sich in eindeutiger Weise Immunkomplexe nachweisen. Diese zeigen teilweise eine deutlich aufgelockerte Struktur sowie eine vermehrte Elektronentransparenz. Es entsteht der Eindruck von "sich auflösenden" Immunkomplexen. Dies läßt sich ebenso im Bereich zwischen myoider Zelle und deren äußerer, basalmembranähnlicher Einscheidung beobachten (Abb. 20).

Die Sertolizellen erweisen sich, soweit sichtbar, in diesen Präparaten als nicht wesentlich pathologisch verändert. Spermatogonien sowie Spermatozyten können in regelrechter Lokalisation beobachtet werden. Auch bei diesen lassen sich keine eindeutig pathologischen Befunde erheben. Die in normaler Anzahl um die unveränderten Gefäße gruppierten Leydig'schen Zwischenzellen weisen keine wesentlichen Veränderungen auf. Eine vermehrte Infiltration lymphoider Zellen läßt sich nicht erkennen.

Lichtmikroskopie

In allen Präparaten läßt sich eine vollständig erhaltene tubuläre Architektur erkennen. Einige fibrosierte, bevorzugt randständig gelegene Tubuli gehören zum altersgemäßen Normalbefund. Der Bereich der Basalmembran weist keine Veränderungen auf. Die Sertolizellen sind in normaler Zahl und regelrechter Lokalisation zu beobachten. Spermatogonien wie Spermatozyten lassen sämtliche Differenzierungsstadien ihrer Entwicklung erkennen. Alle

Stufen des Zyklus des germinativen Epithels sind ebenso wie die wesentlichen Stadien der Spermatogenese, nachweisbar. Eine Verminderung der Spermatogenese läßt sich nicht nachweisen. Der intertubuläre Raum weist einen gering vermehrten Zellgehalt auf. Auch einzelne Lymphozyten lassen sich hier erkennen. Die Gefäße, welche sich als leicht wandverdickt, sowie geringgradig erweitert erweisen, sind von, in normaler Anzahl auftretenden Leydig'schen Zwischenzellen, welche eine unauffälliges morphologisches Bild zeigen, umgeben.

Zwischen Tieren mit immunhistologisch positivem sowie negativem Befund läßt sich im histologischen Bild kein eindeutiger Unterschied erkennen (Abb. 22).

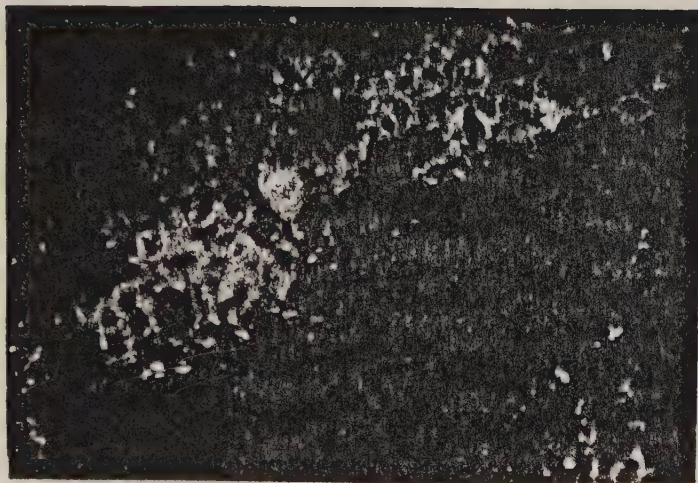
STADIUM V

Abb. 17

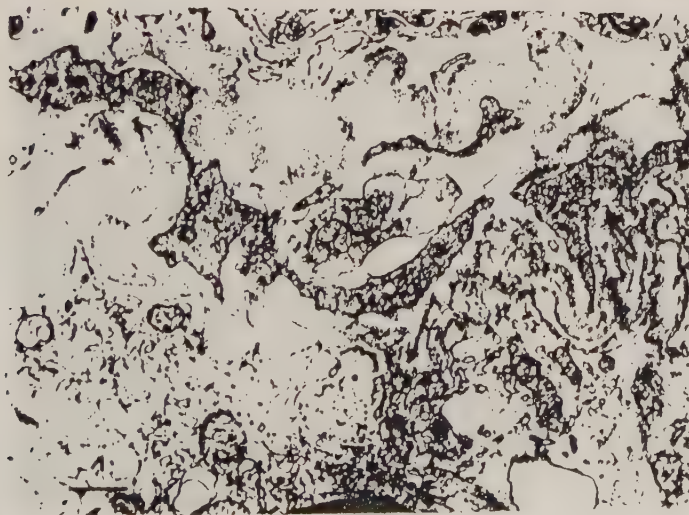


Abb. 18

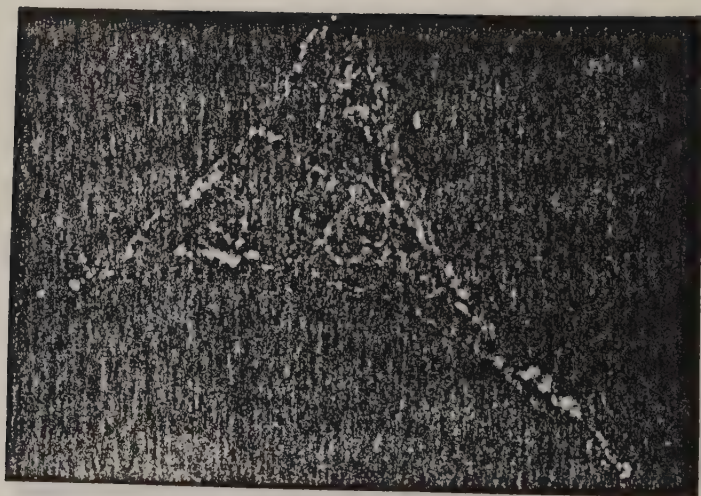
STADIUM V

Abb. 19

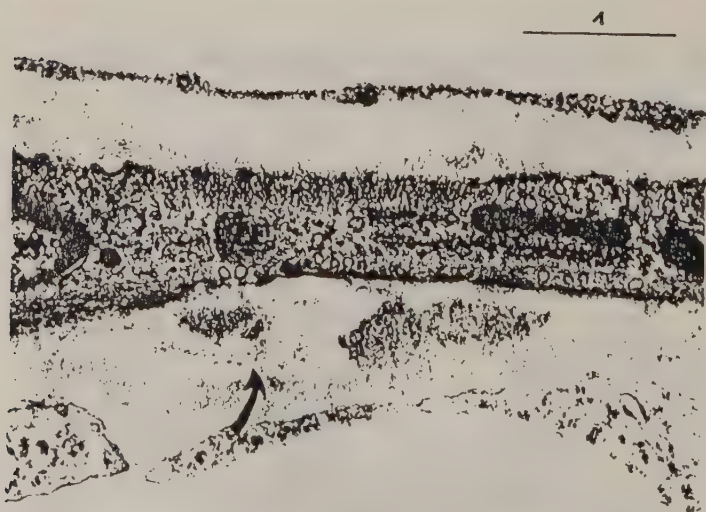


Abb. 20

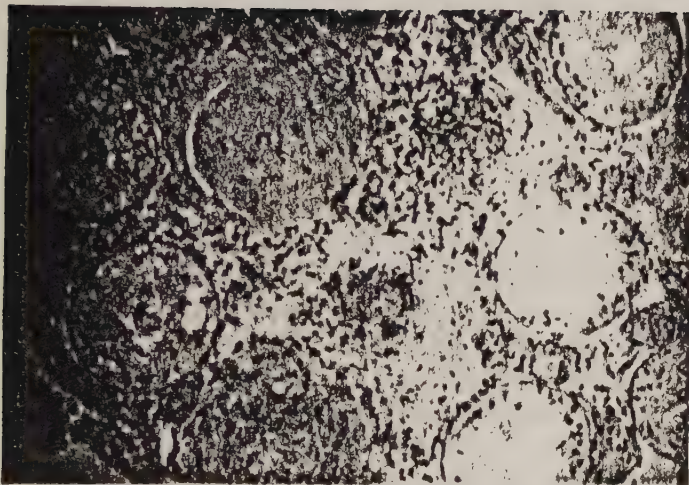
STADIUM V

Abb. 21

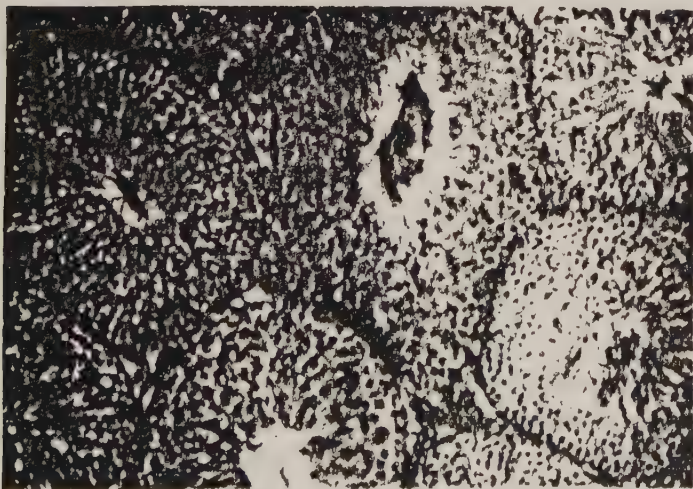


Abb. 22

Das Auftreten von Immunkomplexen im Bereich der Basalmembran der Tubuli seminiferi wurde als Folge verschiedener experimenteller Eingriffe, so z.B. einer Vasoligation bei Kaninchen (Bigazzi 1976), einer Thymektomie bei einem Mäusestamm (Taguchi 1981), in seltenen Fällen auch im Rahmen einer experimentellen autoimmunologischen Orchitis (Tung 1976, Teuscher 1983) sowie im Gegensatz hierzu, spontan auftretend bei Nerzen, beobachtet. Immer traten sie in diesen Fällen jedoch im Rahmen einer entzündlichen Reaktion auf, so daß sich immer wieder die Frage stellte, ob das Auftreten der Immunkomplexe der Orchitis vorausging und jene begründete, oder ob sie nur ein im Verlauf des akuten Stadiums auftretendes Epiphänomen, ohne pathogenetische Bedeutung seien (Tung 1980). Bei den von Salomon und Hedinger 1982 beschriebenen Patienten mit Fertilitätsproblemen dagegen fällt auf, daß die Hälfte der Patienten bei welchen sich Immunkomplexe nachweisen lassen, eine schwere, die andere Hälfte dagegen nur eine leichte tubuläre Atrophie histologisch erkennen lassen. Bei den BN-Ratten läßt sich beides, also Immunkomplexe bei völlig unauffälligem Organbefund sowie gleichzeitig auftretend mit schwersten, das Organ weitgehend destruierenden Vorgängen, beobachten.

Sowohl hinsichtlich der Lokalisation der Immunkomplexe zwischen Basalmembran und myoider Zellschicht, als auch in Bezug auf deren elektronenmikroskopisches - in beiden Fällen als "feingranulär mäßiger Elektronendichte" zu beschreibendes - Erscheinungsbild, besteht eine auffallende Ähnlichkeit zwischen den von Salomon und Hedinger 1982 als Typ 2 klassifizierten Befunden und den bei BN-Ratten zu beobachtenden Immunglobulindepots.

Salomon und Hedinger teilten die von ihnen beobachteten Veränderungen im Bereich der Basalmembran der Tubuli seminiferi nach einem von Olsen 1974 zur Klassifizierung von "abnormalen Basalmembranstrukturen" (ABMS) der Niere erarbeiteten Schema ein. Der Typ ABMS 2 repräsentiert

hier das für Immunkomplexe typische Erscheinungsbild. Der Typ 1 dagegen weist im ultrastrukturellen Bild locker angeordnetes Material geringer Elektronendichte auf. Mitunter entsteht bei dem Typ 1 ABMS der Eindruck, als "wäre dort ein Immunglobulindepot gewesen" (Salomon 1982). Einen sehr ähnlichen Eindruck kann man auch aus dem bei den BN-Ratten als Stadium V beschriebenen immunhistologischen sowie elektronenmikroskopischen Befunden gewinnen. Die Immunkomplexe erscheinen im immunhistologischen Präparat als "zerfallend" bzw. als "sich auflösend". Im elektronenmikroskopischen Bild lassen sich die Immunkomplexdepots nur noch zum Teil sicher nachweisen. Bei den noch mit ausreichender Sicherheit zu identifizierenden Immunkomplexen läßt sich dabei eine unterschiedliche Elektronendichte beobachten.

Die von Salomon und Hedinger 1982 beschriebenen als ABMS Typ III, IV und V bezeichneten Strukturen, lassen sich in dem vorliegenden elektronenmikroskopischen Untersuchungsmaterial nicht nachweisen. Die hormonelle Beeinflussung des germinativen Epithels wurde, speziell bei Ratten, schon oft und ausführlich untersucht (Chutuly 1940, Clermont/Morgenthaler 1955, Rosso 1968, Krause 1972, Russell 1976). Ohne die Einwirkung von Testosteron erreicht die Spermatogenese höchstens das 7. von 19 Stadien der Spermatogenese. Bei einem partiellen Ausfall der gonadotropen Hormone lassen sich gehäuft Nekrosen von pachytänen Spermatozyten sowie von Spermatiden im Stadien 7 bzw. 19 nachweisen (Russell 1976).

Da sich weder vermehrte Nekrosen dieser Stadien noch eine quantitative Beeinträchtigung der Spermatogenese, wie von (Tung 1981/1984) bei Nerzen mit primärer Infertilität beschrieben, nachweisen lassen, ergibt sich kein Anhalt für einen Mangel hormoneller Faktoren im Bereich des germinativen Epithels. Auch zu den von Altdorfer 1975 bei Menschen mit primären bzw. sekundären Hypogonadotropismus beschriebenen Veränderungen läßt sich im histologischen Bild keinerlei Parallelität erkennen. Ebenso

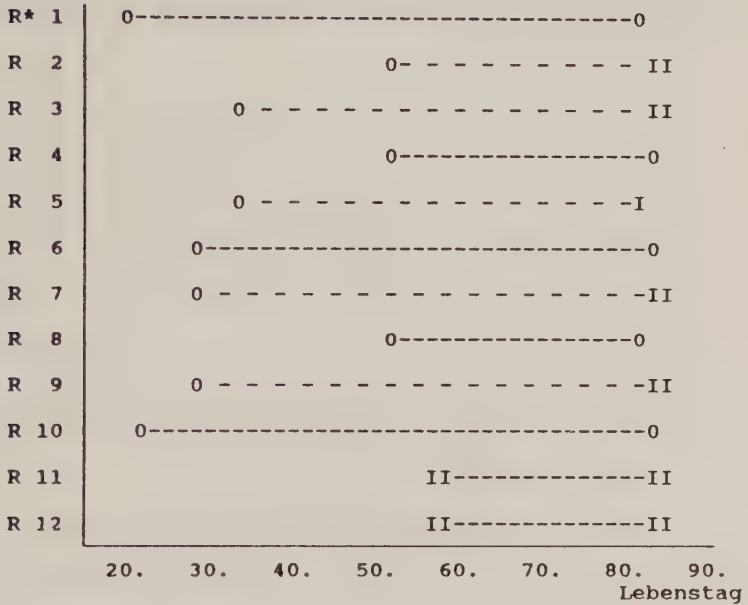
kann ein ähnlicher genetischer Defekt im Bereich des "Growth and reproduction complex", wie er von Kunz 1979 bei einem sterilen Ratteninzuchtstamm beschrieben wurde, welcher histologisch durch eine Aspermatogenese sowie eine atypische Lokalisation der Sertolizellen gekennzeichnet ist, auf Grund der völlig unauffälligen Konfiguration bzw. Lokalisation der Sertolizellen und der voll entwickelten Spermatogenese, weitgehend ausgeschlossen werden. Im akuten Stadium der Erkrankung tritt eine Vielzahl von pathologischen Veränderungen, so z.B. eine massive inter- bzw. intratubuläre Infiltration lymphoider Zellen, eine extreme Vakuolisierung von Sertolizellen sowie ein fast vollständiger Verlust der Zellen des germinativen Epithels, auf, welche aber auch als charakteristisch für die experimentell induzierte Orchitis ist (z.B. Waksman 1959, Tung 1970, Levine 1970, Gardner 1973, Tedde 1969, Malewa 1983, Lustig 1980, 1982). Ein prinzipieller Unterschied zwischen dem akuten Stadium der spontan auftretenden Erkrankung und dem histologischen Bild einer experimentell induzierten Orchitis ist nicht zu erkennen.

3. Verlauf der Erkrankung

Zu unterschiedlichen Lebenszeitpunkten individueller Tiere (s. Tabellen) wurde jeweils der rechte und zu einem späteren Termin der linke Hoden entnommen und immunhistologisch untersucht. Die Intervalle wurden zwischen drei Wochen und einem Jahr gestreut, damit verschiedene Altersgruppen erfaßt wurden. Ein Teil der Präparate wurde nicht nur auf IgG, sondern auch auf C₃ untersucht und die Spezifität der Ergebnisse mit Anti-Albumin geprüft.

Tabelle 1

Wechsel des immunhistologischen Befundes zwischen dem 22. und 84. Lebenstag



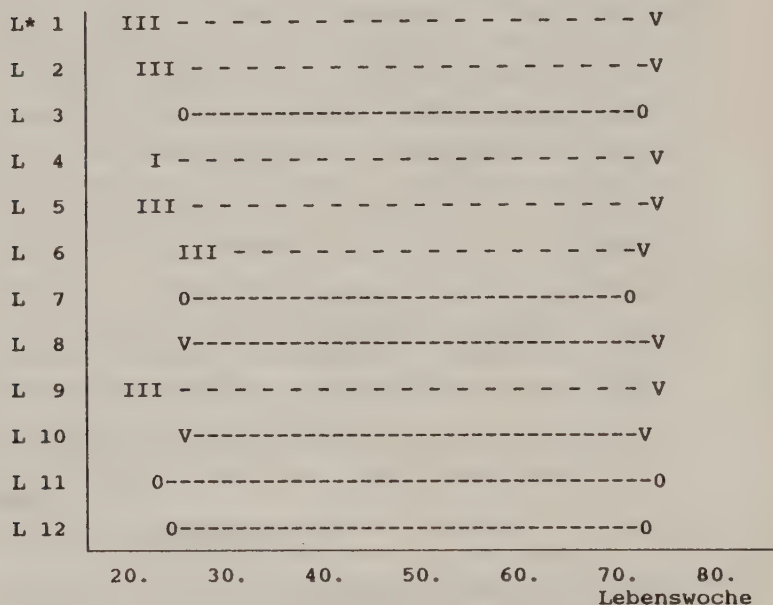
- R* = Nummer des Tieres
 - - - = Wechsel des immunhistologischen Befundes
 ----- = Unveränderter immunhistologischer Befund
 0 = Negativer immunhistologischer Befund
 I, II = Immunhistologisches Stadium

In fünf Fällen konnte ein Wechsel des immunhistologischen Befundes festgestellt werden. Das kürzeste Intervall, in welchem ein Wechsel von einem immunhistologisch negativem zu einem positivem Befund gefunden wurde, betrug 28 Tage. Alle Präparate, welche vor dem 40. Lebenstag entnommen wurden, erwiesen sich immunhisto-

logisch negativ. Am 84. Tag dagegen ließen sich bei 7 von 12 Präparaten Immunkomplexe im Bereich der Tubuli seminiferi nachweisen.

Tabelle 2

Wechsel des immunhistologischen Befundes im Verlauf eines Jahres



L* = Nummer des Tieres

--- = Wechsel des immunhistologischen Befundes

----- = Unveränderter immunhistologischer Befund

I, III = Immunhistologisches Stadium

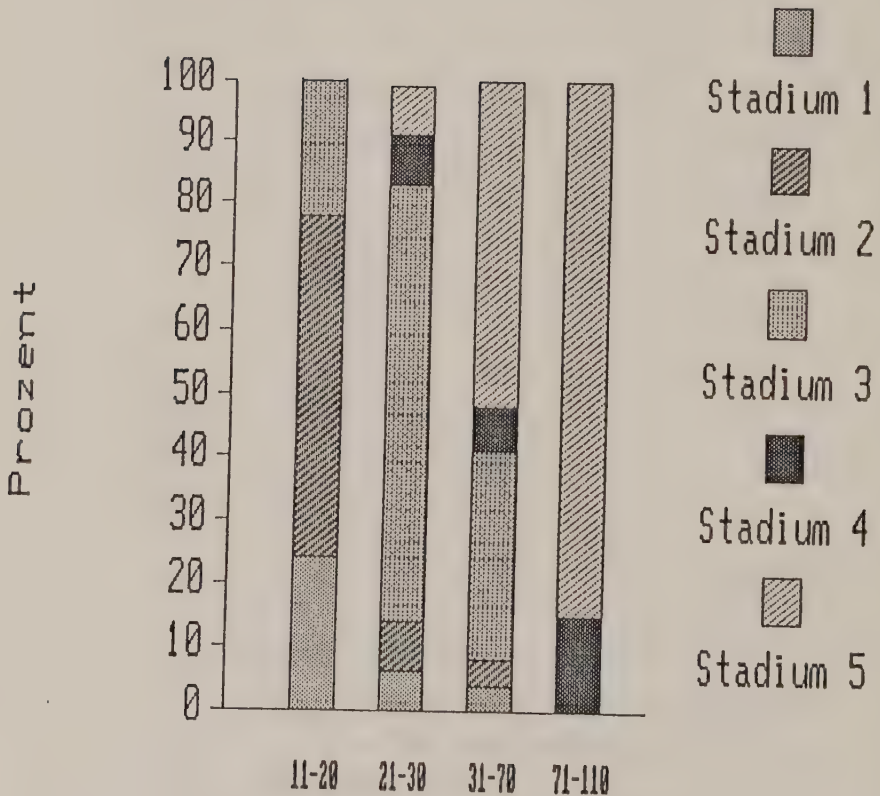
0 = Negativer Befund

In fünf Fällen konnte ein Wechsel von Stadium III in der 25. -30. Lebenswoche zu Stadium V ein Jahr später beobachtet werden.

Vier Tiere mit einem bei der ersten Untersuchung negativen immunhistologischen Befund, wiesen ein Jahr später einen ebenso negativen Befund auf. Das Persistieren von Stadium V wurde in zwei Fällen beobachtet.

Graphik II

RELATIVE HÄUFIGKEIT DER IMMUNHISTOLOGISCHEN
STADIEN BEZOGEN AUF DAS LEBENSALTER



Lebensalter in Wochen

n = 108

Im Zeitraum zwischen der 10. und 20. Lebenswoche überwiegt mit 78% der Anteil der Tiere, welche im immunhistologischen Präparat den Stadien I und II zuzuordnen sind. Zwischen der 21. und der 30. Lebenswoche weisen 69% der Ratten das Stadium III auf. Erstmals treten hier die Stadien IV und V in Erscheinung. Im Alter von mehr als 31 Wochen sieht man kaum noch die Stadien I, II und III, sondern überwiegend Stadium V. An 31 untersuchten Präparaten verschiedener Stadien konnte jeweils ein identisches immunhistologisches Befundmuster bei Verwendung von IgG- sowie C₃ Antiseren beobachtet werden. in keinem der mit Anti-Albumin überschichteten Präparate war eine Fluoreszenz der Depots nachweisbar.

Tabelle 3

Das Auftreten von schwerwiegenden pathologischen Organveränderungen in Relation zum Lebensalter bei Tieren mit immunhistologisch positivem wie negativem Befund

Lebensalter in Wochen	10-20	21-30	31-70
Immunhistol. POSITIV	37	35	27
Schwere patho. Veränderungen	0	5	4
Immunhistol. NEGATIV	23	22	17
Schwere patho. Veränderungen	0	0	0

Histologisch waren schwere pathologische Veränderungen, wie inter bzw intratubuläre Zellinfiltration oder Verlust des germinativen Epithels bei Tieren unter 20 Wochen Alter nicht nachweisbar. Zwischen der 20. und 30. Lebenswoche hatten jedoch 14% der immunhistologisch

positiven Tiere einen solchen Befund. 22 Ratten, bei denen sich keine Immunglobulindepots im Bereich der Tubuli seminiferi beobachten ließen, zeigten histologisch einen Normalbefund. Im Alter zwischen der 31. und 70. Woche konnte bei 4 von 27 (15%) ein schwerwiegender Organbefund beobachtet werden, dagegen bei keinem der 14 immunhistologisch negativen Tiere.

Die Immunkomplexe treten also zwischen dem 40. und 80. Lebenstag auf. In diesem Zeitraum setzt die Spermatogenese ein (nach Russell 1968 zwischen dem 50. und 60. Tag). Das Auftreten spermienpezifischer Antigene kann jedoch schon ab dem 30. Tag nachgewiesen werden (Isoijma 1968). Man muß jedoch berücksichtigen, daß andere spontan auftretende immunologische Erkrankungen in einem ähnlichen Lebensalter einsetzen, z.B. der bei BB-Ratten zwischen dem 60. und 120. Lebenstag einsetzende Diabetes mellitus (Laupacis 1983, Rossini 1983); der Diabetes beim chinesischem Hamster zwischen dem 30. und 60. Tag; bei Mäusen eine sich ab der 8. Lebenswoche entwickelnde tubulointerstitielle Nephritis (Kelly und Mitarbeiter 1986). In diesen Fällen wird von den Autoren eine sich erst in diesem Lebensabschnitt vollziehende Ausreifung des Immunsystems angenommen. Im weiteren Verlauf der Erkrankung kommt es bei der überwiegenden Zahl der Tiere bis zur 30. Lebenswoche zu einer Zunahme der Immunkomplexe im Bereich der Basalmembran. Eine ähnliche Zunahme der Immunkomplexe ist auch von der bei OS-Hühnern spontan auftretenden Thyroiditis bekannt (Katz 1981). Nur ein Teil der Ratten entwickelt nach der 20. Lebenswoche eine schwere, zum Funktionsverlust des Organs führende Orchitis. Für den größeren Teil der Tiere welche Immunkomplexe im Bereich der Tubuli seminiferi aufweisen, bleibt dieser Befund ohne histologisch erkennbare Auswirkungen. In diesen Fällen kommt es offensichtlich ab der 30. Lebenswoche zu einer quantitativen Verminderung und Umstrukturierung der Immunkomplexe, welche man als "sich auflösend" oder "zerfallend" deuten könnte.

4. Ausschluß anderer Erkrankungen

Das Auftreten von Immunkomplexen wurde nach Vasoligation bei verschiedenen Spezies beobachtet (Bigazzi 1976, Deborrah und Alexander 1981, Witkin 1982, Tung 1980). Andererseits wurden die Folgen einer Vasoligation bzw. Vasektomie speziell bei Ratten untersucht ohne daß Immunkomplexe nachzuweisen waren (Kubota 1969, Rümke 1970, Flickinger 1972, Brannen 1974, Nykänen 1978, Smith 1962). Für die spontane Erkrankung der BN-Ratten stellte sich die Frage, ob eine Obstruktion der abführenden Samenwege an der Pathogenese der Erkrankung beteiligt sein könnte. Zum Ausschluß einer Obstruktion wurde folgendes Vorgehen gewählt:

Bei der Sektion von 43 BN-Ratten wurden, nach Eröffnung der Leibeshöhle sowie manueller Luxation der Testikel in den Bauchraum, der Ductus deferens 1 cm vor dem Eintritt in die Samenblase durchtrennt. Es wurde dabei darauf geachtet, ob es zu einem spontanen Austreten von Sperma nach der Druchtrennung kam, und wenn dies der Fall war, dieses, vermischt mit einem Tropfen 0.9% NaCl-Lösung, auf einen Objektträger ausgestrichen und anschließend mikroskopisch auf das Vorkommen von Spermien hin untersucht. Von der Schnittstelle aus wurde nach Einführen einer Kanüle sowie doppelter Umschlingung des Ductus deferens im Bereich der Kanüle, eine Farbstofflösung sowohl retrograd als auch in Richtung der abführenden Samenwege injiziert. Es wurde dabei das retrograde Vordringen des Farbstoffes sowie, in abführender Richtung, auf dessen Austritt aus der Urethra geachtet.

In diesem Zusammenhang wurde eine Gewichtsbestimmung der Hoden ausgeführt. Die Gänge unmittelbar nach deren Durchtritt durch die Tunica albuginea wurden abgetrennt sowie der Nebenhoden entfernt. Es wurde das Gewicht sämtlicher im Verlauf der Untersuchungen entfernten Hoden erfaßt.

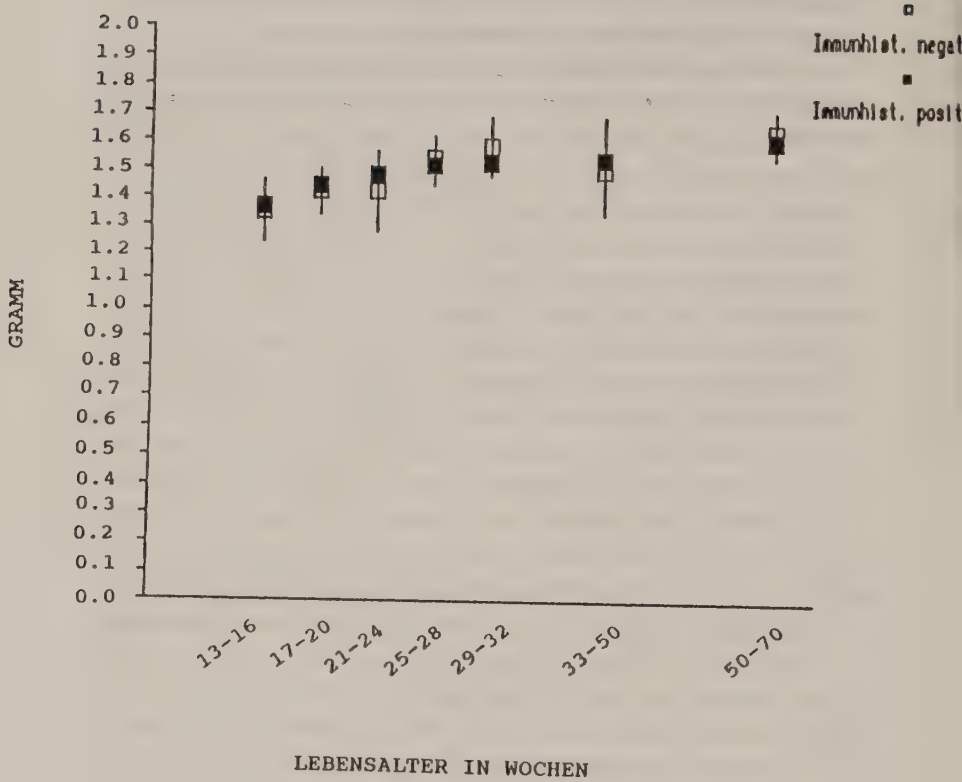
Ferner stellte sich die Frage, ob diese spontan auftretende Immunkomplexablagerung in den Hoden auch zu Manifestationen an anderen Organen führt, oder gar die Folge eines an einem anderen Organ ablaufenden Prozesses darstellen könnte. Antigengemeinsamkeiten des Hodengewebes wurden mit Nierengewebe (Lustig 1974, 1978, 1980, Pierce 1967, Rudofsky 1980) und auch mit Parotisgewebe beschrieben (Nagano 1973). Um solchen Antigengemeinsamkeiten zwischen Nieren und Hodengewebe nachzugehen, wurden auch die Nieren von 37 Tieren histologisch und immunhistologisch untersucht. Den Parotis-Präparaten von 10 Tieren, welchen im Bereich der Tubuli seminiferi einen negativen immunhistologischen Befund aufwiesen, wurden 10 Parotis-Präparate von BN-Ratten, die Immunkomplexe in Bereich der Tubuli seminiferi aufweisen, gegenübergestellt. Bei 26 Tieren wurde zusätzlich der Nebenhoden im Bereich der Cauda histologisch sowie immunhistologisch untersucht. Dies erschien geboten, da eine Schädigung des Gangsystems im Bereich des Nebenhodens als Ursache für das Eindringen von Antikörpern in die Tubuli seminiferi sowie einer sich daraufhin entwickelnden Orchitis diskutiert worden ist (Brown 1969, Johnson 1969, 1970, Sanui 1983). Ferner mußte auch das Vorliegen eines Kryptorchismus bzw. einer Torsion als Ursache der Erkrankung in die Überlegungen miteinbezogen werden (Krause 1971, Kurßisz 1985, Harrison 1981). Bei allen im Verlauf der Untersuchung operierten bzw. seziierten Tieren wurde daher auf Hinweise bezüglich des Vorliegens eines Kryptorchismus oder einer Torsion geachtet. Bei allen untersuchten BN-Ratten konnte, nach der Durchtrennung des Ductus deferens, ein spontanes Austreten einer weißlichen Flüssigkeit aus dem proximalen Teil des Ganges beobachtet werden. In dieser konnten, ebenso in allen Fällen, mikroskopisch Spermien nachgewiesen werden.

Bei der Füllung des Ductus deferens in distaler Richtung ließ sich regelmäßig ein Austreten des Farbstoffes aus der Urethra verzeichnen. Im Fall der retrograden Füllung konnte jeweils ein Vordringen des Farbstoffes bis in die Cauda epididymitis beobachtet werden. Zwischen Tieren mit immunhistologisch positivem und negativem Befund konnte kein Unterschied festgestellt werden.

Die untersuchten Nieren- und Parotispräparate boten histologisch sowie immunhistologisch einen unauffälligen Befund.

Graphik III

GEWICHTSANALYSE DER TESTIKEL* BEZOGEN
AUF DAS LEBENSALTER



n = 129

*Es wurde jeweils das Gewicht des rechten Testikels berücksichtigt

Zwischen den beiden untersuchten Gruppen läßt sich in keinem Lebensalter ein signifikanter Unterschied erkennen. Die Werte lagen in allen Altersklassen deutlich innerhalb des Bereichs der Standardabweichung. Zwischen den histologisch sowie immunhistologisch untersuchten Nieren von Tieren mit immunhistologisch positivem ($n = 23$) sowie negativem ($n = 14$) Befund im Bereich der Tubuli seminiferi konnte kein Unterschied vermerkt werden. Gleiches galt auch für die untersuchten Parotispräparate.

Auch die immunhistologisch untersuchten Präparate des Ductus epididymidis lassen keinen Unterschied erkennen. Tiere, welche im Bereich ihrer Tubuli seminiferi Immunkomplexe aufweisen, lassen in diesem Abschnitt des Gangsystems keine Immunglobulindepots erkennen.

Tabelle IV
Körpergewichtsanalyse

Lebensalter in Wochen	Immunhist. Befund	Anzahl n	Mittelw. in Gramm	Standard- abweichung
12. Woche	+	7	178	9,4
	-	5	176	14,2
25. Woche	+	5	248	11,1
	-	6	247	9,8
40.-50. Woche	+	8	275	11,6
	-	7	270	16,4

In keiner der untersuchten Altersgruppen kann ein signifikanter Unterschied des Körpergewichts zwischen BN-Ratten mit immunhistologisch positivem sowie negativem Befund im Bereich der Tubuli seminiferi nachgewiesen werden.

Bei einem von über 150 untersuchten Tieren konnte ein einseitiger Kryptorchismus beobachtet werden. Bei allen übrigen waren beide Testikel entweder regelrecht im Skrotum lokalisiert, oder ließen sich dorthin ohne Schwierigkeiten manuell luxieren. Ein Hinweis auf eine Torsion des Samenstranges ergab sich bei keinem der Tiere.

Auf Grund der vorliegenden Untersuchungsergebnisse kann eine Obstruktion des abführenden Gangsystems als Ursache des Auftretens von Immunkomplexen ausgeschlossen werden. Ohnehin traten die von Bigazzi 1976 bei Kaninchen nach Vasoligation beobachteten Immunkomplexdepots erst im Rahmen einer Orchitis auf, während sich bei dem überwiegendem Teil der BN-Ratten, welche Immunkomplexe im Bereich der Tubuli seminiferi aufweisen, hier keine entzündliche Reaktion beobachten läßt. Auch der sehr sensible Indikator des Gewichtes der Hoden ergänzt und bestätigt den sich auch aus den morphologischen Untersuchungen ergebenden Befund, daß die Immunkomplexe, solange nicht eine möglicherweise in Zusammenhang mit ihnen stehende Zellinfiltration vor sich gegangen ist, offensichtlich keine eindeutigen Auswirkungen auf das generative Epithel erkennen lassen.

Daß Immunkomplexe sich in den Tubuli seminiferi, nicht aber im Cauda epididymitis nachweisen lassen, spricht nicht nur gegen das vermutete Vordringen von Antikörpern über einen geschädigten Ductus epididymitis in die Tubuli seminiferi (Brown 1969, Johnson 1969/70, Sanui 1983), sondern lenkt auch den Blick auf die immer wieder aufgeworfene Frage nach dem Unterschied zwischen spontan auftretender und experimentell induzierter Erkrankung. Auf Grund der Gewichtsanalysen der Hoden und des Körpergewichtes kann, in Verbindung mit den schon beschriebenen elektronenmikroskopischen sowie histologischen Befunden, ein ähnlicher genetischer Defekt wie er bei BIL/1-Ratten zu beobachten ist, weitestgehend

ausgeschlossen werden.

Auch das Vorliegen eines Kryptorchismus bzw. einer Torsion kann auf Grund der unauffälligen Befunde verneint werden. Da sich zudem keinerlei Kreuzreaktionen an den, dafür am ehesten in Frage kommenden Organen Niere sowie Parotis erkennen lassen, scheint es sich in der Tat um eine ausschließlich gegen Elemente der Tubuli seminiferi gerichtete autoimmunologische Reaktion zu handeln.

5. Serologische Untersuchungen

Die Frage, welche Relevanz Antikörper gegen Zellen des germinativen Epithels bzw. gegen Spermien haben, ist oft diskutiert worden, nicht nur im Bezug auf die experimentell induzierte Orchitis, sondern auch in Hinblick auf Fertilitätsstörungen beim Menschen (Manrang-Pangan 1971). Antikörper gegen Spermien konnten nach Vasoligation (Rümke 1970, Bigazzi 1977, Anderson 1981, Takami 1982) und auch nach intracutaner bzw. subcutaner Applikation von testikuärem Antigen - mit sowie ohne Freund'schen Adjuvans - beobachtet werden (Mancini 1965, 1969, Brown 1967, Tung 1970, Sanui/Yoshida 1982, Kantor 1973, Toullet/Voisin 1976). Eine gesicherte Korrelation zwischen dem Ausmaß der Gewebsläsionen bzw. der Verminderung der Fertilität und dem Auftreten von Antikörpern (Katsh 1971), konnte nie bewiesen werden. Das Vorkommen von Spermien-Antikörpern ist in der Regel ohne erkennbare Auswirkungen für das germinative Epithel (z.B. Tung 1971, Rümke 1970). Beim Menschen wurden nach einer Vielzahl von Erkrankungen, so z.B. Orchitis, Epididymitis, Hodendystrophien, Hodentraumen, Gonorrhoe sowie TBC, die Bildung von Antikörper gegen Spermien berichtet (Haensch 1969). Bei fast allen Säugetier-Spezies beobachtet man sog. "natürliche Antikörper", welche gegen Spermien gerichtet sind (Edwards 1960, Padma 1972, Johnson 1968). Wir untersuchten deshalb, ob bei

unserem Modell Spermien-Antikörper vorkommen. Seren von 51 BN-Ratten wurden auf Antikörper gegen Spermien bzw. andere Elemente der Tubuli seminiferi mit der indirekten Immunfluoreszenz untersucht. Es fanden dabei Ausstriche epididymaler Spermien wie auch Gefrierschnitte von Hoden Verwendung.

Bei allen Tieren wurde gleichzeitig ein direkter immunhistologischer Befund der Hoden erhoben.

Dieser Gruppe wurde eine zweite Versuchsgruppe von 12 BN-Ratten, bei welchen mittels drei verschiedener Antigene 90 Tage vorher eine experimentelle Orchitis induziert worden war, gegenübergestellt.

Tabelle V: Spermien-Antikörper im Serum

Indirekte Immunfluoreszenz	-	+	++	+++	n
Immunhistol. POSITIV	26	6	1	0	33
Immunhistol. NEGATIV	13	3	2	0	18
Experiment. ind. Orchitis	0	0	1	11	12

- = Negativer Befund
 + = Schwache Fluoreszenz
 ++ = Mittelgradige Fluoreszenz
 +++ = Sehr starke Fluoreszenz

Bei 7 von 33 Tieren, welche in ihrem Testikeln Immunkomplexe aufweisen, können im Serum gegen Spermien gerichtete Antikörper nachgewiesen werden. Von den 18 Tieren mit immunhistologisch negativem Befund weisen fünf Antikörper gegen Spermien auf. In beiden Gruppen sind diese Antikörper besonders gegen das Akrosom und in zweiter Linie gegen den Schwanzteil der Spermien gerichtet. Diese Antikörper sind mit niedrigem Titer von höchstens 1:8 nachzuweisen.

Alle Tiere, bei denen eine induzierte Orchitis besteht, wiesen auch noch bei 1:8 Verdünnung eine starke Fluoreszenz auf.

Am Gewebeschnitt weisen die Zellen des germinativen Epithels nach Überschichtung mit Serum in indirekter Immunfluoreszenz eine deutlich hellere Fluoreszenz als der sich wenig anfärbende Bereich der Basalmembran auf. Es kann kein eindeutiger Unterschied zwischen den Seren von Tieren, welche einen immunhistologisch positivem bzw. negativem Befund im Bereich ihrer Tubuli seminiferi aufweisen, verzeichnet werden. Die Gruppe der Tiere mit induzierter Orchitis läßt jeweils eine sehr starke Fluoreszenz der Zellen des germinativen Epithels, bei negativem Befund im Bereich der Basalmembran und des Interstitiums, erkennen.

Sowohl bei BN-Ratten mit immunhistologisch positivem als auch negativem Befund im Bereich der Tubuli seminiferi treten in 20-30 Prozent der Tiere im Serum Spermien-Antikörper niedriger Titerstufen auf. Zirkulierende Antikörper gegen andere Hodenstrukturen kommen nicht vor. Bei allen Tieren, die an einer induzierten Orchitis erkrankt sind, lassen sich sowohl Antikörper gegen Spermien als auch gegen Zellen des germinativen Epithels nachweisen.

Da der Anteil der Tiere, welche Antikörper gegen Spermien aufweisen in beiden Gruppen, - Tieren mit bzw. ohne Immunkomplexbefund im Bereich der Tubuli seminiferi - annähernd gleich groß ist, kann eine spezifisch gegen Spermien gerichtete Antikörperbildung von Tieren mit immunhistologisch positivem Befund ausgeschlossen werden. Es kann sich bei den nachgewiesenen niedrigtitrigen Antikörpern um sogenannte "natürliche Antikörper" handeln, wie sie sich nicht nur bei Ratten, sondern bei anderen Spezies nachweisen lassen (Edwards 1960, Johnson 1968, Padma 1972, Tung 1981). Diese treten in der Regel

nur in niedrigen Titerstufen auf. Da sich auch keine Antikörper gegen andere Strukturen des testikulären Gewebes nachweisen lassen stellt sich die Frage ob sich die, in der direkten Immunfluoreszenz im Bereich der Basalmembran sichtbaren Antikörper nur mit der Methode der indirekten Immunfluoreszenz nicht nachweisen lassen, oder, daß sie sehr schnell an das testikuläre Antigen binden und so nicht mehr, oder nur noch in für einen Nachweis nicht mehr ausreichendem Ausmaß, in der Zirkulation auftreten.

Der sich hieraus ergebende Frage nach der antigenen Komponente der Immunkomplexe, wurde im weiteren Verlauf der Untersuchung nachgegangen.

6. Elution der Immunglobulindepots

Zur Klärung des Pathogeneseweges wäre ein Aufschluß über das beteiligte Antigen wichtig. Dabei besteht die Möglichkeit, daß es sich um ein örtlich lokalisiertes Antigen mit in-situ erfolgreicher Antikörperbindung oder um präformierte zirkulierende Immunkomplexe handelt. Besonders auf dem Gebiet der Immunkomplexerkrankungen der Niere ist mittels der Elution der Antikörper aus dem Gewebe erstmals 1959 von Fredman sowie in der Folge von vielen Autoren, so z.B. von Lerner 1967 und Woodroffe 1977, dieser Frage nachgegangen worden. Am Hoden wurde diese Technik von Bigazzi 1976 sowie von Tung 1978, 1980 und 1981 angewendet. Da diese Methode häufig mit Schwierigkeiten verbunden ist (Williams 1980) konnte nicht immer der Nachweis der Antigenspezifität, so z.B. bei der Thyreoiditis von OS-Hühnern (Katz 1981), geführt werden.

Für die Elution fand Hodengewebe von Tieren Verwendung, bei denen die immunhistologisch definierten Stadien II und III vorlagen.

Um einer Kontamination durch Serumantikörper vorzubeugen

wurde nur Gewebe von Tieren verwendet, die keine solchen aufwiesen. Zur Kontrolle wurden auch Hoden "eluiert", die einen negativen immunhistologischen Befund hatten.

Spermienausstriche lassen nach Überschichtung mit Eluat sowie anschließender Inkubation und indirekter Fluoreszenz keine spezifische Fluoreszenz erkennen. Wird in gleicher Weise gefrierigeschnittenes Hodengewebe eingesetzt, so zeigt sich eine deutlich Fluoreszenz im Bereich der zentral gelegenen Anteile des germinativen Epithels aller Tubuli seminiferi. Eine Bindung der Antikörper an einzelne Zellen läßt sich hier nicht erkennen. Der Bereich des germinativen Epithels, in welchem in der Regel Spermatozyten I zu beobachten sind, weist keinerlei spezifische Fluoreszenz auf (Abb. 23). Im basalen Kompartiment der Tubuli seminiferi dagegen binden die Antikörper an besonders große, perlenkettenartig aneinander gereihte Zellen. Diese befinden sich in der Nähe der Basalmembran, liegen ihr jedoch nicht an, sondern sind von dieser vielmehr in eindeutiger Weise durch einen schmalen Spalt getrennt. In diesem, sich der Basalmembran unmittelbar anschließenden Bereich, in welchem im histologischen Bild Sertolizellen sowie Spermatogonien zu erkennen sind (Abb. 24), läßt sich keine spezifische Bindung der Antikörper nachweisen. Der Bereich der Basalmembran ist ebenso wie der interstitielle Raum negativ. Das aus dem Gewebe von Tieren mit immunhistologisch negativem Befund im Bereich der Tubuli seminiferi gewonnene Eluat, läßt keine spezifische Fluoreszenz bzw. auch keine unterschiedlich intensive Anfärbung in den verschiedenen Bereichen der Tubuli seminiferi erkennen.

Nachweis der Bindungsregion von eluierten Anti-
körpern aus erkrankten Hoden am Normalgewebe

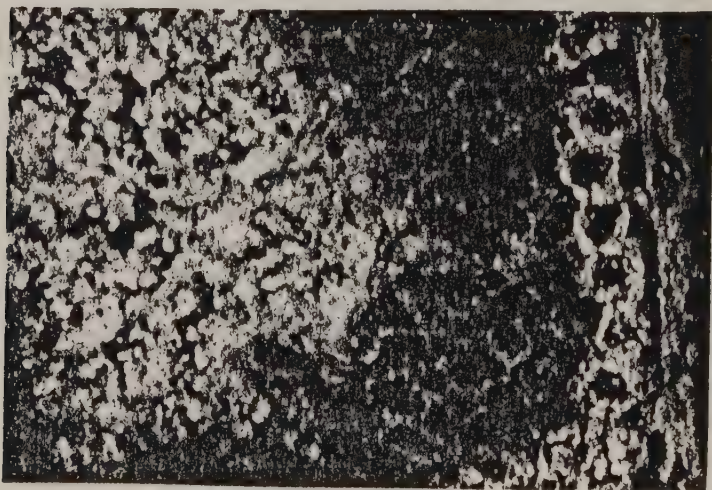


Abb. 23



Abb. 24

Das Bindungsmuster der aus dem Hodenhomogenat gewonnenen bzw. aus den Immunkomplexen freigesetzten Antikörper spricht dafür, daß die als Antigen wirksamen Strukturen im Zusammenhang mit fortgeschrittenen Stadien der Spermatogenese, welche in diesem Bereich zu lokalisieren sind, auftreten. Diese als Antigen wirksamen Oberflächenstrukturen treten anscheinend nicht auf den ausgereiften Spermien auf. Da diese jedoch ihre letzten Ausreifungsschritte erst während des Verlassens der Testikel durchlaufen ist damit natürlich auch eine Veränderung ihrer Oberflächenstruktur möglich. In jedem Fall scheinen die ausgereiften Spermien nicht, wie von Bigazzi 1976 bei vasoligierten Kaninchen feststellte, der als Antigen wirksame Bestandteil der Immunkomplexe zu sein. Im Unterschied zu den hier untersuchten Ratten wiesen diese Tiere jedoch eine massive entzündliche Reaktion mit weitgehender Zerstörung der tubulären Architektur ihrer Testikel auf.

Bei den, in einigen Tubuli zu beobachtenden sehr großen - in der Nähe der Basalmembran, ihr aber nicht anliegenden - Zellen, an welche sich Antikörper des Eluates binden, handelt es sich wahrscheinlich um Spermatozyten I.

Die Diskrepanz zwischen dem Ort des Auftretens des Antigens sowie der Lokalisation der Immunkomplexe läßt den Verdacht aufkommen, daß es, in dem von Polysacchariden gekennzeichneten Bereich der Basalmembran der Tubuli seminiferi, zu einer Verminderung der Löslichkeit der Antigen-Antikörperverbindungen mit daraufhin erfolgreicher Aggregation bzw. Precipitation derselben kommt, wie sie von Laurent (1966) und Hellsing (1968, 1969) in vitro sowie 1985 von Matsuo in vivo nachgewiesen wurde.

7. Zellulär vermittelte immunologische Reaktionen

Den zellulär-vermittelten immunologischen Reaktionsmechanismen wurde schon lange (Waksman 1959, Tung 1970), besonders aber in den letzten Jahren (Tung 1977, 1981, Sakamoto 1984, 1985), eine entscheidende Rolle in der Pathogenese am Hoden zugeschrieben.

So wies Tung 1983 eine enge Korrelation zwischen der Stimulierbarkeit von Lymphozyten durch testikuläre Elemente sowie dem, als Folge der Induktion einer experimentellen Orchitis, zu beobachtenden Ausmaß der histopathologischen Veränderungen nach. Auch bei einem sich als infertil erweisenden Mäuseinzuchtstamm, konnte von Dooher 1981 eine gegen testikuläre Elemente gerichtete zelluläre Reaktivität beobachtet werden. Ebenso verdichtete sich bei zwei wesentlichen Modellen spontan autretender autoimmunologischer Erkrankungen - dem bei BB-Ratten zu beobachtenden Diabetes sowie der bei OS-Hühnern auftretendes Thyroiditis - erst in jüngster Zeit die Vermutung, daß ein Defekt bzw. eine Anomalität des zellulären Anteils des Immunsystems die entscheidende Ursache für die Entwicklung der Erkrankung ist (Greiner 1986, Neilson 1986).

Es wurden 25 BN-Ratten, deren Testikel anschließend immunhistologisch untersucht wurden, jeweils 0,1 ml vier verschiedener Antigenpräparation intrakutan appliziert. Als erste Präparation fand der oftmals verwendete Überstand testikulären Homogenates, welcher besonders reich an spermienspezifischen Antigenen ist, Anwendung (Johnson 1969, 1970, Mazzoli 1971).

Des weiteren wurde auch gefriergetrocknetes Testeshomogenat, wie von Vojitiskova 1962 beschrieben, verwendet. Da besonders in jüngster Zeit auch vermehrt versucht wurde, bei Verwendung von frischem Zellmaterial eine Sensibilisierung im Hauttest nachzuweisen, kam als drittes testikuläres Präparat eine Suspension frischen

Gewebes zur Anwendung (Miller 1972, Yoshida 1981, 1982, Sakamoto 1984, 1985). Zur Kontrolle wurde aus Parotidgeewebe eine Präparation hergestellt. Bei keinem Tiere der Tiere lag eine akute Orchitis vor.

Sowohl bei der aus dem Überstand testikulären Gewebes hergestellten, als auch bei der aus gefriergetrocknetem Material gewonnenen Antigenpräparation, konnte im beobachteten Zeitraum weder eine Rötung noch eine Induration der Haut beobachtet werden.

Im Falle der dritten Präparation, der testikulären Zellsuspension, konnte ebenso keine Rötung, jedoch nach 48 bzw. 72 Stunden eine im Durchmesser 2 - 3 mm große Induration verzeichnet werden. Diese trat jedoch bei allen Tieren in nahezu gleicher Weise auf. Ein Unterschied zwischen Tieren, welche in der anschließenden Untersuchung der Testikel einen positiven immunhistologischen Befund aufwiesen ($n = 14$) sowie der Gruppe der BN-Ratten mit negativen Untersuchungsergebnis ($n = 11$) konnte nicht erkannt werden.

Auch bei Verwendung der Parotiszellsuspension konnte bei allen Tieren nach 48 bzw. 72 Stunden eine Induration, aber keine Rötung beobachtet werden.

Bei der, sowohl nach Applikation einer testikulären bzw. einer aus Parotidgeewebe gewonnenen Zellsuspension zu beobachtenden Induration, handelt es sich damit wahrscheinlich um eine unspezifische Reaktion auf das intrakutan eingebrachte zelluläre Material. Eine spezifisch gegen testikulären Elemente gerichtete Reaktionsbereitschaft kann somit gegenüber keiner der verwendeten Testpräparationen nachgewiesen werden. Bei der Suche nach spezifisch sensibilisierten, autoaggressiven Zellen sollte aber nicht vergessen werden, daß diese sich auch bei gesunden Individuen, in ihrer Reaktivität aber offensichtlich durch "lösliche Serumfaktoren" blockiert, nachweisen lassen, wie sie gerade

auf dem Gebiet der gegen testikuläre Antigene gerichteten immunologischen Reaktionen von Weckerle 1977, 1978 sowie Tung 1985 beschrieben wurden.

Aus der Tatsache, daß sich mit Hilfe der angewandten Methodik keine Beteiligung des zellulären Anteils des Immunsystems nachweisen läßt, kann nicht geschlossen werden, daß jener keine bzw. eine nur untergeordnete Bedeutung im Zusammenhang mit dem Auftreten der Immunkomplexe besitzt. Besonders läßt sich mit herkömmlichen Methoden natürlich nicht ein umschriebener Defekt im komplexen T-Zellsystem, wie jüngst bei ähnlichen Modellen autoimmunologischer Erkrankungen beschrieben (Wick 1982, Boyd 1984, Greiner 1986, Neilson 1986), ausschließen. Auch das Auftreten einer mit Immunkomplexen einhergehenden Orchitis nach neonataler Thymektomie bei einem Mäusestamm (Taguchi 1981), läßt weitere Überlegungen in dieser Richtung sicher als geboten erscheinen.

8. Experimentell induzierte autoimmunologische Orchitis bei BN-Ratten

Die experimentelle autoimmunologische Orchitis gilt seit Voisin (1951) und Freund (1953) als eines der "klassischen" Modelle experimenteller autoimmunologischer Erkrankungen. Immer wieder wurde dabei die Frage aufgeworfen, ob durch diese experimentelle Induktion der Erkrankung nicht doch gänzlich andere immunologische Reaktionsabläufe in Gang gesetzt würden als sie normalerweise bei "spontan" auftretenden Erkrankungen vor sich gehen.

So schien die Gegenüberstellung einer, in der üblichen Weise induzierten, experimentellen Erkrankung mit der, bei demselben Ratteninzuchtstamm, spontan auftretenden Erkrankung zur Klärung dieser Frage von besonderem Interesse zu sein.

Bei 16 BN-Ratten wurde nach operativer Entfernung des rechten Testikels (zum Nachweis eines negativen Ausgangsbefundes) mittels verschiedenen Antigenpräparationen versucht, eine experimentelle autoimmunologische Orchitis zu induzieren. Als Kontrollgruppe dienten sechs weitere Tiere, denen nur Freund'sches Adjuvans und Pertussissuspension in gleicher Weise sowie zum gleichen Zeitpunkt, d.h. jeweils 3 mal in 14-tägigen Intervallen, appliziert wurde.

Eine histologische, immunhistologische sowie serologische Untersuchung erfolgte sodann am 90. Tag nach der ersten Behandlung.

Tabelle VI

Gegenüberstellung der nach Induktion einer experimentellen autoimmunologischen Orchitis zu beobachtenden histologischen, immunhistologischen sowie serologischen Befunde (Zahl der Test-Tiere/Zahl der positiven Tiere)

Antigen- präparat.	Schwere Orch. 1*	Antikörper gegen Sper.2*	Testik.	Immunkompl. in Test.ge.
STH+CFA+ BP	8/8	8/8	8/8	8/0
ASPM/R+ CFA+BP	4/3	4/4	4/4	4/0
ASPM/S CFA+BP	4/0	4/4	4/4	4/0
CFA+BP	6/0	6/0	6/0	6/0

- 1* Der Begriff "schwere Orchitis" wurde, entsprechend dem Grad IV der von Freund erstmalig 1953 verwendeten Klassifikation der im Verlauf einer experimentellen Orchitis auftretenden Gewebeschäden, wie folgt definiert:
Nahezu alle Tubuli seminiferi weisen einen

teilweisen bzw. kompletten Verlust der Zellen des germinativen Epithels auf. In den Tubuli seminiferi sind nahezu nur noch Sertolizellen zu sehen. Ebenso können fokale Ansammlungen von Lymphozyten sowie das Auftreten von Riesenzellen beobachtet werden.

- 2* Das Serum der Tiere wurde in einer 1:4 Verdünnung mittels der indirekten Immunfluoreszenz auf Spermienausstrichen bzw. tiefgefrorenen Testikelschnitten untersucht.

Makroskopischer Befund

Am 90. Tag nach Induktion der Erkrankung erwiesen sich die Testikel aller erkrankten Tiere in der Größe um über die Hälfte vermindert. Sie boten jeweils einen eingefallenen und blassen Aspekt.

Histologie

Das histologische Bild der eine Orchitis aufweisenden Testikel ist gekennzeichnet durch einen weitgehenden Verlust der Zellen des germinativen Epithels sowie eine teilweise massive Infiltration lymphozytärer Zellen in den inter- bzw. intratubulären Raum (Abb. 25, 26). Intratubulär können mitunter Riesenzellen mit mehreren Kernen beobachtet werden. An der verbreiterten, oft geschlängelt verlaufenden Basalmembran haften oft nur noch vereinzelt Sertolizellen, welche in ihrem Zytoplasma große Vakuolen erkennen lassen. Im Lumen der Tubuli seminiferi können keine Spermien, höchstens noch Bruchstücke von ihnen, beobachtet werden. Während sich zwischen dem histologischen Bild der an einer Orchitis erkrankten Tiere, welchen

STH+CFA+BP bzw. ASPM/R+CFA+BP appliziert wurde, kein wesentlicher Unterschied erkennen läßt, weisen die mit ASPM/S behandelten Tiere keine derartig gravierenden Veränderungen ihres testikulären Gewebes auf, sondern zeigen außer einer gering verminderten Spermatogenese einen histologisch weitgehend unauffälligen Befund. Dies gilt auch für die Tiere der Kontrollgruppe.

Serologie

Alle Tiere, welchen eine Präparation testikulären Antigens in Verbindung mit CFA und BP appliziert wurde, wiesen in der indirekten Immunfluoreszenz (Verdünnung 1:4) Antikörper gegen Spermien (Abb. 27) sowie gegen sämtliche intratubulären Elemente auf (Abb. 28). Im Bereich der Basalmembran konnte in keinem Fall eine Antikörperbindung nachgewiesen werden.

BN-Ratten, welche SNA+CFA+BP injiziert wurde, wiesen regelmäßig sowohl gegen die akrosomalen Bereiche wie auch gegen den Schwanz der Spermien gerichtete Antikörper auf. Im Gegensatz dazu wiesen Tiere, welchen ASPM/R bzw. ASPM/S in Verbindung mit CFA und BP appliziert wurde, häufig nur gegen das Akrosom oder nur gegen den Schwanz der Spermien gerichtete Antikörper auf.

Immunhistologie

In Bereichen, in welchen offensichtlich gerade ein aktiver Prozess abläuft, erscheint der gesamte Inhalt der Tubuli seminiferi deutlich positiv. Der Bereich der Basalmembran erweist sich jedoch hier, wie auch in den Bereichen der Tubuli seminiferi, in welchen es schon zu einem weitgehenden Verlust des germinativen

Epithels gekommen ist, als eindeutig negativ.

In keinem Fall kann ein dem spontanen Auftreten von Immunkomplexen annähernd ähnliches immunhistologisches Bild beobachtet werden.

Zwischen den verschiedenen durch unterschiedliche Antigenpräparationen ausgelösten Gewebsläsionen, läßt sich in der direkten Immunfluoreszenz kein Unterschied erkennen.

Alle Tiere der Kontrollgruppe wiesen einen unverdächtigen immunhistologischen Befund auf.

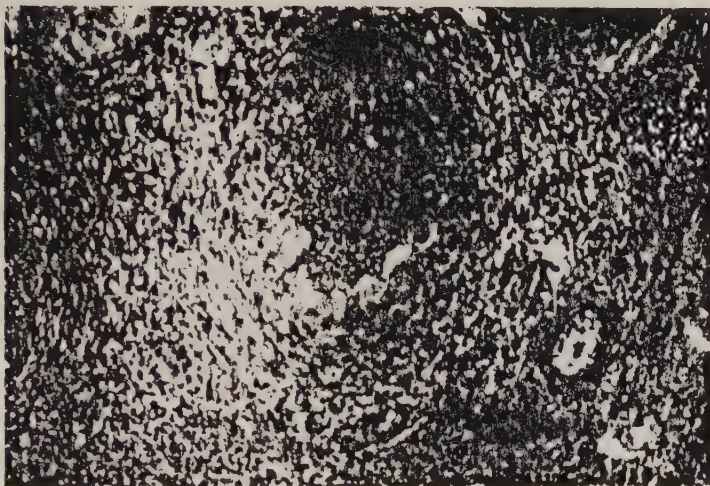
INDUZIERTE EXPERIMENTELLE AUTOIMMUNOLOGISCHE ORCHITIS

Abb. 25

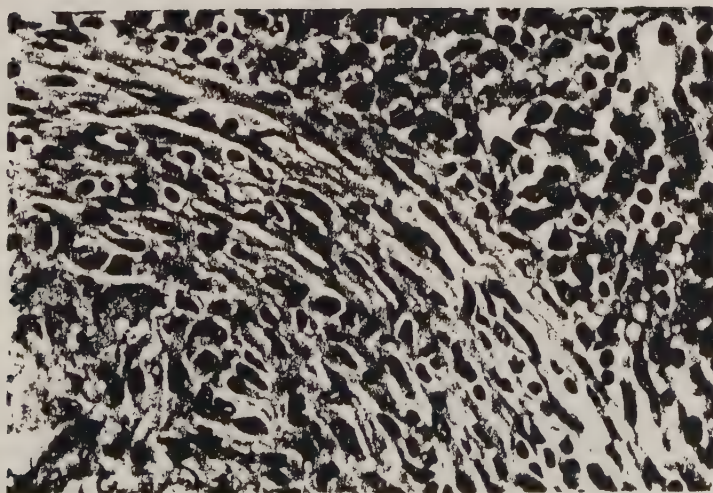


Abb. 26

INDUZIERTE EXPERIMENTELLE AUTOIMMUNOLOGISCHE ORCHITIS

Abb. 27

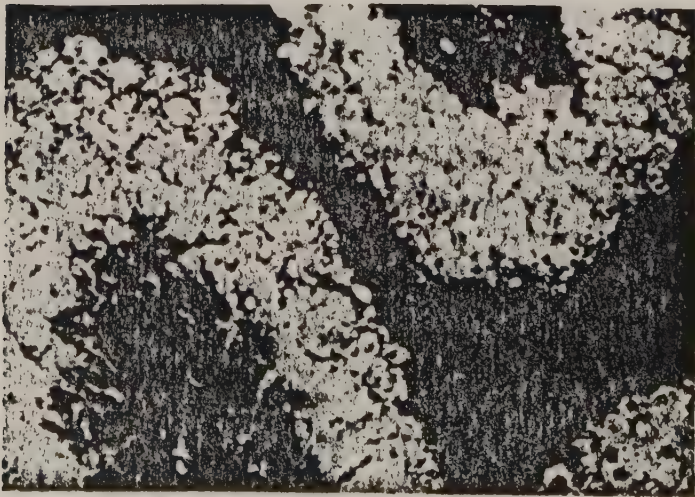


Abb. 28

Die bei den BN-Ratten induzierte autoimmunologische Orchitis weist im histologischen Bild alle, schon von einer Vielzahl von Autoren, bei Ratten besonders von Freund 1953, Levine 1970, Tedde 1973, Gardner 1969/1970, Laurence 1965, Lustig 1982, Denduchis 1978, 1985) beschriebenen, üblicherweise auftretenden, charakteristischen morphologischen Veränderungen auf. Es erweist sich als nicht möglich, aus dem histologischen Bild ein eindeutiges Unterscheidungsmerkmal zwischen der induzierten und der bei demselben Rattenstamm spontan auftretenden Erkrankung zu definieren.

Auch die im Verlauf der bei BN-Ratten induzierten Erkrankung zu beobachtenden immunhistologischen Befunde gleichen weitestgehend den schon von anderen Autoren berichteten Untersuchungsergebnissen. So wurde das Auftreten von Immunkomplexen im Rahmen einer experimentell induzierten Orchitis nur sehr selten, stets aber im Zusammenhang mit der akuten Phase einer entzündlichen Reaktion, beschrieben (Tung 1978, Bigazzi 1976, Anderson 1981, Khono 1983). In der überwiegenden Anzahl der Arbeiten konnte kein spezifischer immunhistologischer Befund erhoben werden. So wurde bisher kein, dem immunhistologischen Bild der Immunkomplexe, welche bei BN-Ratten spontan auftreten, entsprechender Befund auf dem Gebiet der experimentell induzierten Orchitis beschrieben. Es stellt sich die Frage, ob dies an dem Wirken unterschiedlicher Antigene liegen könnte. Die hier zur Anwendung gekommenen Antigenpräparationen wurden auch von anderen Autoren am häufigsten zur Induktion der Erkrankung verwendet. Auch der Umstand, daß sich autologes Antigen als wesentlich wirksamer erweist als heterologes Material, steht in Einklang mit Ergebnissen, die zum Teil bei anderen Spezies, beschrieben sind (Freund 1955, Pokorna 1963, Levine 1970). Von mehreren Autoren wurde versucht, aus dem Hoden-

gewebe einzelne, als Antigen wirksame Komponenten zu isolieren (Freund 1954, Toulett 1976, 1985, Hapopian 1975, Lustig 1982). Doch konnte auch in diesen Fällen kein immunhistologischer Befund, welcher dem spontanen Auftreten der Immunkomplexe bei dem BN-Ratten entspricht, beobachtet werden.

Alle Tiere, welchen testikuläres Gewebe in Verbindung mit CFA und BP appliziert wurde, weisen in der indirekten Immunfluoreszenz Antikörper gegen sämtliche Elemente des germinativen Epithels auf. Vergleicht man diesen Befund mit der hoch spezifischen Bindung der aus den Immunkomplexen eluierten Antikörper, welche an Strukturen, die in der dem Lumen hin angeordneten Hälfte des germinativen Epithels sowie offensichtlich auch auf großen Zellen im basalen Kompartiment der Tubul seminiferi vorhanden sind, binden, so kann man daraus folgern, daß offensichtlich unterschiedliche Gewebselemente jeweils als Antigen wirken. Doch scheint es fraglich ob, wenn eine Isolierung dieser Antigene gelänge, sich mit diesen eine, der spontan auftretenden Erkrankung entsprechende experimentelle Erkrankung induzieren ließe. Der gesamte Verlauf der spontan auftretenden Erkrankung, bei welcher sich die Immunkomplexe lange vor der - nur bei einem geringeren Anteil der Tiere einsetzenden - aggressiven Phase der Erkrankung beobachten lassen, weist deutliche Unterschiede zu den bisher beschriebenen Verläufen von experimentell induzierten Erkrankungen auf.

So stellt sich die Frage, ob dem Auftreten von Immunkomplexen bei den BN-Ratten nicht ein grundsätzlich anderer immunregulatorischer Mechanismus zugrunde liegt, als er bei der induzierten experimentellen Orchitis wirksam ist.

IV. DISKUSSION

Für den Funktionsausfall von Organen wird häufig eine entzündliche Organzerstörung in Folge von Autoimmunerkrankungen verantwortlich gemacht. Die Indizien dafür finden sich in erster Linie im Serum in Form von organ-spezifischen Autoantikörpern und in zweiter Linie durch Nachweis immunologischer Reaktionen am betroffenen Gewebe. Diese Indizien sind jedoch keineswegs als Beweise für die tatsächliche pathogenetische Wirksamkeit von Antikörpern zu betrachten, solange nicht durch den Transfer derselben die Erkrankung des vorher gesunden Organes ausgelöst werden kann. Dem Immunsystem steht ja noch das zelluläre System der Makrophagen und der Lymphozyten zur Verfügung. Deren Nachweis in der Zirkulation und im Gewebe ist rein morphologisch natürlich genauso möglich, aber es ist wesentlich schwerer, ihre spezifische immunologische Funktion darzustellen. Auch beim zellulären Arm der Immunreaktion müßte die Pathogenese durch den Transfer der Zellen in das vormals gesunde Individuum bewiesen werden. Solche Untersuchungen sind nur im Tierexperiment und bedingt in vitro möglich. Unabhängig vom Transfer des pathogenetischen Prinzips dient der Tierversuch dazu, durch Adjuvans-gestützte Autoimmunisierung entsprechende Organerkrankungen künstlich auszulösen. Aus solchen Experimenten ist ein weiteres starkes Indiz zu gewinnen, daß Autoimmunität im Spiele ist. Daneben hat aber die Beobachtung von "spontan" auftretenden Organerkrankungen bei Tieren und deren Beschreibungen die Vorstellung der Autoimmunpathogenese erhärtet. Offenbar sind die Erscheinungsbilder an den einzelnen Organen verschieden, was einerseits von der jeweiligen Funktion des Organs, andererseits wohl auch von der Art und Lokalisation des Autoantigens abhängt.

Während bei der Niere der membrantoxische bzw. der Immunkomplex-vermittelte Immunmechanismus im Vordergrund zu stehen scheint, ist das bei der Schilddrüse weniger

deutlich zu fassen, weil das Bild mehr zellulär geprägt erscheint, obwohl auch hier direkte Antikörperwirkungen und Ablagerungen von Immunkomplexen nachweisbar sind. Völlig offen ist der Pathomechanismus der Lebererkrankung. An dem in dieser Arbeit beschriebenen Modell der Orchitis ist deutlich geworden, daß bemerkenswerte Unterschiede zwischen der "spontanen" Orchitis und der induzierten Erkrankung bestehen: Die spontane Hodenerkrankung ist durch Immundepots gekennzeichnet, während die induzierte Form solche nicht erkennen läßt. Solche spontanen Organerkrankungen sind bei Versuchstieren nicht sehr häufig beschrieben und vor allem betreffen sie nur wenige Organe. Insbesondere ist die Schilddrüse dafür bekannt (bei Hühnern, Mäusen, Ratten und Hunden). Obwohl an der Niere regelmäßig Erkrankungen verschiedener Lokalisation induziert werden können, kommen an diesem Organ kaum spontane Veränderungen vor, die an eine Immunpathogenese erinnern. Dies trifft insbesondere auch auf Ratten zu und deshalb erscheint es besonders bemerkenswert, daß eine zur partiellen Infertilität führende Immundepotablagerung an Brown Norway-Ratten nachweisbar ist, die andererseits an der Niere keine solchen Befunde tragen, oder durch einen Funktionsverlust der Nieren auffällig würden. Wir haben die lebenszeitaltersmäßige Entwicklung verfolgt und festgestellt, daß mit Eintritt des Fertilitätszeitpunktes bereits 60% der Tiere Zeichen der Immunpathogenese aufweisen. Dies ist anders als bei der spontanen Thyreoiditis der Buffalo-Ratten, bei denen ca. 25% der etwa einjährigen Tiere krank sind. Bei der Thyreoiditis wird das histologische Bild von Zellinfiltraten bestimmt. Bei der Orchitis bietet die verlaufsmäßige Beobachtung keinen Hinweis darauf, daß die nachgewiesenen Immundepots direkt von einer zellulären Infiltration gefolgt wären. Es fällt also schwer, ohne weiteres den bekannten Typ III Mechanismus der immunologischen Entzündungsreaktion anzunehmen. Man kann darin Parallelen zu der sog. perimembranösen Glomerulonephritis

bei Ratte (induziert) und Mensch (spontan) sehen, wo ja auch keine entzündlichen Zeichen mit solchen Depots verbunden sind. Ähnlich wie bei der Niere kann man im Verlauf der Orchitis den Eindruck "sich auflösender" Depots zeigen. Dennoch ist die Konsequenz eine interstitielle Faservermehrung und die Atrophie der Samenkanälchen. Die pathogenetische Bedeutung der Immundepots wird auch in der Literatur kontrovers diskutiert (Bigazzi 1976, Taguchi 1981, Tung 1981). Ob sie Auslöser oder Epiphänomen der akuten Phase einer Erkrankung sind, ist auch nach Khono 1983 unklar. Die Immunkomplex-Pathogenese wird besonders bei den Nierenerkrankungen seit langem untersucht (Dixon 1958, Couser 1985). Aber auch bei der Schilddrüse kommen Immundepots vor (Pfaltz 1985). Bei der rheumatoiden Arthritis werden Immunkomplexe ursächlich vermutet (Benaceraff und Unanue 1982, Roitt 1985). Schließlich fanden Salomon und Hedinger 1985 bei Patienten mit Fertilitätsstörungen Immundepots im Bereich der Basalmembran der Tubuli seminiferi. Diese letzteren Befunde weisen elektronenmikroskopisch große Ähnlichkeit zu den hier bei einem Inzuchtstamm spontan auftretenden Befunden auf.

Wir haben in unseren Versuchen keine Erklärung für das Zustandekommen der Immundepots aufdecken können. Bemerkenswert erscheint vielleicht, daß die Immundepots überwiegend im unmittelbarem Bereich der Basalmembran der Tubuli seminiferi zu erkennen sind. Diese Beobachtung könnte als Zeichen gegen die Vorstellung von, aus der Zirkulation stammenden Immunkomplexen interpretiert werden. Möglich wäre statt dessen eine in-situ-Bildung von Immundepots jeweils an Stellen, an denen ein relevantes antigenisches Substrat liegt oder entstanden ist. Dieser Mechanismus wurde früher und in letzter Zeit für die Niere (Klassen 1969, Hoyer 1980), die Schilddrüse (Karesen 1969, Clagett 1974) sowie bei Vasoligations-Experimenten (Bigazzi 1976) diskutiert. Gleichmaßen wie für die Theorie der zirkulierenden Immunkomplexe muß

aber auch bei dieser neueren Vorstellung gesagt werden, daß die direkte immunpathogenetische Bedeutung einer in-situ-Bildung nicht absolut gesichert ist. Auffallend war an den serologischen Untersuchungen, daß Spermienantikörper bei der spontanen Orchitis deutlich weniger nachweisbar waren als bei der induzierten Form. Man müßte also für den in-situ-Mechanismus annehmen, daß die relevanten Antikörper gegen andere Antigenformen gerichtet sind. Die Elution von Antikörpern aus erkrankten Hoden brachte insofern unterstützende Hinweise, als die Bindungsbereiche sich auf basale Zellschichten, besonders Spermatozyten I beziehen. Möglicherweise ist also ein Antigen, das in der Frühphase der Spermatogenese vorliegt, Zielort des Antikörpers.

Die Versuche, einen Hinweis auf zelluläre Immunität bei orchitischen Tieren zu gewinnen, waren erfolglos. Wahrscheinlich mußten ähnliche Versuche mit noch definierteren Antigenpräparationen wiederholt werden, oder ein Test zum in-vitro-Nachweis spezifischer Immunität entwickelt werden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Bei einem Ratteninzuchtstamm treten zwischen der 8. und 12. Lebenswoche Immunkomplexe im Bereich der Basalmembran der Tubuli seminiferi auf. 60% der Tiere des Stammes sind hiervon betroffen. In den, auch elektronenmikroskopisch zu erkennenden Depots läßt sich IgG und C₃ nachweisen. Bis zur 30. Lebenswoche kommt es zu einer Zunahme dieser Immundepots. Im Alter über 30 Wochen sieht man eine Umstrukturierung und Verminderung dieser Depots. Bei 15% der Tiere kommt es nach der 20. Woche zu einer lymphozytären Zellinfiltration, die von einer Destruktion des germinativen Epithels begleitet ist. Aus dem Gewebe eluierte Antikörper binden an Spermatozyten I sowie in lumennahen Bereichen der Tubuli seminiferi. Ein Zusammenhang zwischen im Serum nachweisbaren Spermien-Antikörper und dem immunhistologischen Befund läßt sich nicht erkennen. Auch Hautteste erweisen sich als negativ. Kreuzreaktionen zu Nieren und Parotis treten nicht auf. Andere Erkrankungen werden als Ursache ausgeschlossen. Die akute Phase der spontan auftretenden Erkrankung läßt sich nur immunhistologisch, nicht jedoch histologisch von einer induzierten experimentellen Orchitis unterscheiden. Es könnte sich bei dieser spontan auftretenden Orchitis der BN-Ratten um ein Beispiel der Immunpathogenese durch in-situ-Immunkomplexbildung handeln.

LITERATURVERZEICHNIS

- ALTDORFER, J., HEDINGER, CH. : Diagnostische Bedeutung elektronenmikroskopischer Untersuchungen der Tunica propria der Samenkanälchen
Schweiz. med Wschr. 105:542 (1975)
- ANDERSON, J.A., ALEXANDER, N.J. : Antisperm antibody titres, immune complex deposition and immuno-competence in long-term vasectomized mice
Clin. exp. Immunol. 43:99 (1981)
- AUMÜLLER, G., RITZ, E., KREUSER, E., SPIEGELBERG, U. Ultrastructure of the rat testis in experimental uremia : Andrologia 13:163 (1981)
- BENACERRAF B., UNANUE E.R., IMMUNOLOGIE de Gruyter 1982
- BERNARD, C.C.A., MITCHELL, C.F., LEYDON, J., BARGERBOS Experimental autoimmune orchitis in T-cell-deficient mice
Int.Arch.Allergy and Appl. Immunol. 56:256 (1978)
- BIGAZZI, P.E., KOSUDA, L.L., HSU, K.C., ANDRES, G.A.,: Immune complex orchitis in vasectomized rabbits.
J. exp. Med. 143:382, (1976)
- BIGAZZI PE, KOSUDA LL, HARNICK LL: Sperm auto-antibodies in vasectomized rats of different inbred strains. Science 197:1282, 1977
- BOYD, R., OBERHUBER, G., HALA, K., WICK, G., : Obese strain (OS) chickens with spontaneous autoimmune thyroiditis have a deficiency in thymic nurse cells : J. Immunol. 132:718 (1984)

- BRANNEN, G.E., COFFEY, D.S. : Immunological implications of vasektomy : II. Serum-mediated immunity : Fertil.Seril. 25:515 (1974)
- BRÖKELMANN, J. : Fine structure of germ cells and sertoli cells during the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. Z. Zellforschung 59:820 (1963)
- BROWN, P.C., GLYNN, L.E. : The early lesion of experimental allergic orchitis in guinea pigs: An immunological correlation : J. Path. 59:276 (1969)
- BROWN, P.C., GLYNN, L.E. & HALBOROW, E.J.: The pathogenesis of experimental allergic orchitis in guinea pigs. J. Path.Bact. 86:505 1971
- BROWN, P.C., GLYNN, L.E. & HOLBOROW, E.J.: The dual necessity for delayed hypersensitivity and circulating antibody in the pathogenesis of experimental allergic orchitis in guinea pigs. Immunology, 13:307 (1967)
- CHUTNA, J.& RYCHLIKOVA, M.: Prevention and suppression of experimental autoimmune aspermatogenesis in adult guinea pigs.: Folia Biol., 10:177, (1964a)
- CHUTNA, J.& RYCHLIKOVA, M.: A study of the biological effectiveness of antibodies in the development and prevention of experimental autoimmune aspermatogenesis.: Folia Biol. 10:188, (1964b)

CLAGETT, J.A., WILSON, C.B., WEIGLE, W.O. :

Interstitial immune complex thyroiditis in mice.
The role of autoantibody to thyroglobulin.
J Exp Med 140 : 1439-1456, (1974)

COUSER, W., : Mechanisms of glomerular injury in
immune complex disease. :
Kidney Int. 28:569 (1985)

DENDUCHIS, B., SATZ, M.L., SZTEIN, M.B., PUIG, R.P.,
DONCEL, G., LUSTIG, L. : Multifocal damage of
the testis induced in rats by passive transfer
of antibodies prepared against non-collagenous
fraction of basement membrane
J. of Reprod. Immunol 7:59 (1985)

DENDUCHIS, B., LUSTIG, L., GONZALEZ, N.N., PUIG, R.P.
Isolation and immunological reactivity of soluble
fraktions from rats seminiferous tubule basement
membrane. : Arch. Androl. 2:233 (1979)

DENDUCHIS, B., LUSTIG, L., GONZALEZ, N.N., MANCINI,
Studies on the nature of extracellular components
of rat seminiferous tubular wall. I. Isolation
and chemical characterization of basement membrane
Biol. Reprod. 13:274 (1975)

DIXON JA, VAZQUEZ JJ, WEIGLE WO, COCHRANE CG:
Pathogenesis of serum sickness. AMA Arch
Pathol 65:18, 1958

DIXON FJ, FELDMAN JD, VAZQUEZ JJ: Experimental
glomerulonephritis: the pathogenesis of a
laboratory model resembling the spectrum of human
glomerulonephritis.
J Exp Med 113:899, 1961

- DOOHER, G.B., ARTZT, K., BENNETT, D., HURTENBACH, U.
Observations on autoimmune orchitis in steril
mice carrying a recessive lethal mutation at the
T/t complex exhibiting spontaneous allergic
orchitis : J. Reprod. Fert. 62:505 (1981)
- DYM, M., FAWCETT, D.W. : The blood-testis barrier in
the rat and the physiological compartmentation
of the seminiferous epithelium
Biol. Reprod. 3:308 (1970)
- EDWARDS, R.G. : Complement fixing activity of normal
rabbit serum with rabbit spermatozoa and seminal
plasma : J. Reprod. Fert. 1:268 (1960)
- FAWCETT, D.W., LEAK, L., HEIDGER, P.M.
Electron microscopic observations on the
structural components of the blood-testis
barrier : J. Reprod. Fert. Suppl 10:105 (1970)
- FLICKINGER, C.J. : Ultrastruktüre of the rat testis
after vasktomy : Anat.Rec. 174:477 (1972)
- FREEDMAN, P., MARKOWITZ, A.S. : Immunologic studies
in nephritis : Lancet 2:45 (1959)
- FREUND, J., LIPTON, M.M., & THOMPSON, G.E., : Aspermato-
genesis in the guinea pig induced by testicular
tissue and adjuvants.: J.exp.Med. 97:711, (1953)
- FREUND, J., LIPTON, M.M., & THOMPSON, G.E., : Impairment
of spermatogenesis in the rat after cutaneous
injection of testicular suspension with complete
adjuvant.: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 87:408,
(1954)

- FREUND, J., THOMPSON, G.E., & LIPTON, M.M.,: Aspermato-
genesis, anaphylaxis, and cutaneous sensitization
induced in the guinea pig by homologous testi-
cular extract.: J. exp. Med., 101:591, (1955)
- FRITZ, T.E., LOMBARD, L.S., TYLER, S.A., NORRIS, W.P.
Pathology and familial incidence of orchitis and
its relation to thyroiditis in a closed beagle
colony : Exp.Mol.Pathol. 24:142 (1976)
- GARDNER, P.J., SHERVEY, P.T. : An ultrastructural
and histochemical study of autoimmune asper-
matogenesis in the rat testis
Z. Zellforsch. 147:191 (1974)
- GARDNER, P.J., SHERVEY, P.T. : Ultrastruktüre of
interstitial cells in the aspermatogenic rat
testis : Anat. Rec. 163:188 (1969)
- GERRITSEN, G.C., JOHNSON, M.A., SORET, M.G., SCHULTZ,
Epidemiology of chinese hamsters and preliminary
evidence for genetic heterogeneity of diabetes.
Diabetologia 10:581, (1974)
- GILL, T.J., KUNZ, H.W. : Gene complex controlling
growth and fertility linked to the major histo-
compatibility complex in the rat
Amm. J. Path. 96:178 (1979)
- GOLDBLATT, P.J. : Molecular pathology of the endo-
plasmatic reticulum : Sub-cell Biochem. 1:147
(1972)
- GOOD, R.A., YUNIS, E., : Association of autoimmunity,
immunodeficiency and aging in man, rabbits, and
mice : Fed.Proc. 33:2040 (1974)

- GREINER, D.L., HANDLER, E.S., NAKANO, K., MORDES, J.P.
ROSSINI, A.A. : Absence of the RT-6 cell subset
in diabetes-prone BB/W rats
J. Immunol. 136:148 (1986)
- HAENSCH, R. : Fluorescenzimmunologische Spermienauto-
antikörper-Befunde bei männlichen Fertilitäts-
störungen : Arch. Gynäk. 208:91 (1969)
- HAGOPIAN, A., JACKSON, J.J., CARLO, D.J., LIMJUCO,
G.A., EYLAR, E.H. : Experimental allergic
aspermatogetic orchitis. III. Isolation of
spermatozoal glycoproteins and their role
in allergic aspermatogetic orchitis
J. Immunol. 115:1731 (1975)
- HARRISON RG, LEWIS-JONES DI, MORENO DE MARVAL MJ,
CONNOLLY RC: Mechanism of damage to the
contralateral testis in rats with an ischaemic
testis. Lancet 2:723, (1981)
- HEDINGER, CH.: Diagnostischer und prognostischer
Wert der Hodenbiopsie :
Schweiz.med.Wschr. 101:1084 (1971)
- HELLSING, K.: Immune reactions in polysaccharide
media: investigation on complex formation
between some polysaccharides albumin and
immunoglobulin G. Biochem J 112:483, (1969)
- HELLSING, K.: Immune reactions in polysaccharide
media: the effect of hyaluronate, chondroitin
sulfate and chondroitin sulfate-protein
complex on the precipitin reactions. Biochem J
112:475, (1969)

- HIRAMINE, C., HOJO, K. : Adoptive transfer of suppression of experimental allergic orchitis with lymphoid cells from antigen-pretreated guinea pigs : Clin.Immunol.Immunopath. 30:202 (1984)
- HIRAMINE, C., HOJO, K., : Requirement of B Lymphocytes in local adoptiv transfer of experimental allergic orchitis by lymph node cells Amer. J. of Reprod. Immunol. 6:85 (1984)
- HOJO, K., HIRAMINE, C., : Suppression of experimental allergicorchitisand cellular immune response in the guinea pig by pretreatment with testis antigen in incomplete Freund's adjuvant. Int.Arch.Allergy Appl. Immunol. 69:40 (1982)
- HOLDSWORTH, S., ATKINS,R.C., DE KRETZER, D.M. : The pituitary-testicular axis in men with chronic renal failure : New Engl. J. of Med. 296:1245 (1977)
- HOYER, J.R. : Tubulointerstitial immune complex nephritis in rats immunized with Tamm-Horsfall protein. Kidney Int 17 : 284-292, (1980)
- ISOJIMA, S., LI, T.S., : Stepwise appearance of sperm-specific antigens in rats and their disappearance after fertilization. : Fertil. and Steril. 19.999, (1968)
- JOHNSON, M.H. : Characterization of a natural antibody in normal guinea pig serum reacting with homologous spermatozoa J. Reprod. Fert. 16:503 (1968)

- JOHNSON, M.H. : An immunological barrier in the guinea pig : J. Path. 101:129 (1970)
- JOHNSON, M.H., SETCHELL, B.P. : Protein and immunoglobulin content of the rete testis fluid of rams J. Reprod. Fert. 17:403 (1968)
- JOHNSON, M.H., : Changes in the blood-testis barrier of the guinea pig in relation to histological damage following iso-immunisation with testis J. Reprod. Fert. 22:119 (1970)
- KANTOR, G.L., DIXON, F.J. : Transfer of experimental allergic orchitis with peritoneal exsudate cells J.Immunol. 108:329 (1972)
- KANTOR, G.L., DIXON, F.J. : Fertility of male guinea pigs immunized with testicular antigen in Freund's incomplete adjuvant. Clin. exp. Immunol. 13:225, (1973)
- KARENSEN, R., GODAL, T. : Induction of thyroiditis in guinea pigs by intravenous injection of rabbit anti-guinea pig thyroglobulin serum. Immunology 17 : 863-874, (1969)
- KATSH, S., LEAVER, F.W., KATSH, G.F., WILLSON, J.T. Circulating antibody titers in relation to fertility: I. Male guinea pigs Fertil. Steril. 22:456 (1971)
- KATSH, S., AGUIRRE, A.R., KATSH, G.F., WILLSON, J.T. Lysosomal activity in the testes of guinea pigs immunized with aspermatogenic antigen Int.Arch.Allergy 39:496 (1970)

- KATZ, D., ALBINI, B., KITE JR., J. : Materno-embryonally transferred antibodies precipitate autoimmune thyroiditis in obese strain (OS) chickens
J. Immunol. 137:542 (1986)
- KATZ, D., KITE, J.H., ALBINI, B. : Immune complexes in tissue of obese strain (OS) chickens.
J. Immunol. 126:2296 (1981)
- KELLY, J.C., KORNGOLD, R., MANN, R., CLAYMANN, M., HAVERTY, T., NEILSON, E.G. : Spontaneous interstitial nephritis in kdkd mice
II. Characterization of a tubular antigen-specific, H-2K-restricted Lyt-2+ effector T cell that mediates destructive tubulointerstitial injury : J. Immunol. 136:526 (1986)
- KIERSZENBAUM, A.L. : Effekt of trenimon on the ultrastrukture of sertoli cells in the mouse
Virch. Arch. Abt. B: zell. Path. 5:1 (1970)
- KIERSZENBAUM, A.L., MANCINI, R.E. : Structural changes manifested by sertoli cells during experimental allergic orchitis in guinea pigs
J. Reprod. Fert. 33:119 (1973)
- KLASSEN, J., MILGROM, F. : Autoimmune concomitants of renal allografts. Transplat Proc 1 : 605-608, (1969)
- KOHNO, S., MUNOZ, J.A., WILLIAMS, T.M., TEUSCHER, C., BERNARD, C.C.A., TUNG, K.S.K. : Immunopathology of murine experimental allergic orchitis
J. Immunol. 130:2675 (1983)

- KOHNO, S., MUNOZ, J.A., WILLIAMS, T.M., TEUSCHER, C.,
BERNARD, C.C.A., TUNG, K.S.K. : Immunopathology
of murine experimental allergic orchitis.
J. of Immunol. 130:2675, (1983)
- KRAUSE, H.H. : Qualitative und quantitative
Untersuchungen an spontan dystopen Rattenhoden
Andrologie 4:1 (1972)
- KUNZ, H.W., GILL, J.T., DIXON, B.D., TAYLOR, F.H.,
GREINER, D.L. : Growth and reproduction complex
in the rat : J. exp. Med. 152:1506 (1980)
- KURPIŹ, M., MAZURKIEWICZ, I., FERNANDEZ, N.
Morphological and immunological observations in
experimentally induced torsion of testis in rats
Amer. J. of Reprod. Immunol. 9:129 (1985)
- LANDSTEINER, K., : Zur Kenntnis der spezifisch auf
Blutkörperchen wirkenden Sera. : Zbl. Bakt. 25:
546, (1899)
- LAUPACIS, A., STILLER, C.R., GARDEL, C., KEWON, P.,
DUPRE, J., WALLACE, A.C., THIBERT, P.
Cyclosporin prevents diabetes in BB wistar rats
Lancet 1/8 :10 (1983)
- LAURENCE, K.A., CARPUK, O., & PERLBACHS, M., : Trans-
fer of testicular lesions by leukocytes from
testes-immunized rats.: Int. J. Fertil. 10:13,
(1965)
- LAURENT, T.C. : In vitro studies on the transport
of macromolecules through the connective tissue
Fed. Proc. 25:1128 (1966)

LEBLOND, C.P., CLERMONT, Y. : Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. ; Ann.N.Y. Acad. Sci. 55:548 (1952)

LERNER, R.A., GLASSOK, R.J., DIXON, F.J. :The role of antiglomerular basement membran antibody in the pathogenesis of human glomerulonephritis. J. exp. Med. 126:989 (1967)

LEVINE, S. & SOWINSKI, R., : Allergic inflammation, infarction and induced localization in the testis. Amer. J. Path., 59:437, (1970)

LIKE, A.A., BUTLER, L., WILLIAMS, R.M., APPEL, M.C., WERINGER, E.J., ROSSINI, A.A : Sponaneous autoimmune diabetes mellitus in the BB rat Diabetes Suppl. 31:7 (1982)

LUSTIG, L., DENDUCHIS, B., GONZALEZ, N.N., PUIG, R.P. Experimental orchitis induced in rats by passive transfer of an antiserum to seminiferous basement membran : Arch. Androl. 1:333 (1979)

LUSTIG, L., DENDUCHIS, B. : Glomerulonephritis induced in rats by an antiserum to a soluble fraction of rat seminiferous tubule basement membrane. 4th Inter. Con. of Immunol. Paris Abstr.18.5.18 (1980)

LUSTIG, L., DENDUCHIS B., GONZALES NN, PUIG RP: Experimental orchitis induced in rats by passive-transfer of an antiserum to seminiferous tubule basement membrane. Arch Androl 1:333, (1978)

LUSTIG, L., SATZ, M.L., SZTEIN, M.B., DENDUSCHIS, B.

Antigens of the basement membranes of the seminiferous tubules induce autoimmunity in Wistar rats. : J. of Reprod. Immunol. 4:79 (1982)

MALEWA, E., DIMITROWA, CHR. : Experimentelle Orchitis bei weißen Ratten, hervorgerufen durch Ureaplasma urealyticum

Zbl. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 128:391 (1983)

MANARANG-PANGAN, S., BEHRMAN, S.J. : Spermatotoxicity of immune sera in human infertility
Fertil. Steril. 22:145 (1971)

MANCINI, R.E., MONASTIRSKY, R., COLLAZO, E.F., SEIGUER, A.C., ALONSO, A. : Cytotoxic effect of antispermatogenic antibodies on guinea pig germinal cells in vitro
Fertil. Steril. 20:779 (1969)

MANCINI, R.E., ANDRARDA, J.A., SARACENI, D. BACHMANN, A.E., LAVIERI, J.C., NEMIROVSKI, M.
Immunological and testicular response in man sensitized with human testicular homogenate
J. of clin. Endocrinology and Metabolism : 25:859 (1965)

MANCINI, R.E., DAVIDSON, O.W., VILAR, O., NEMIROVSKY, M., BUENO, M. : Localization of acrosomal antigenicity in guinea pig testes
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111:435 (1962)

MATSUO, S., CALDWELL, P.R.B., BRENTJENS, J.R., ANDRES
In vivo interaction of antibodies with cell surface antigens : J. Clin. Invest 75:1369 (1985)

- MAZZOLI, A.B. : Demonstration in vitro of delayed hypersensitivity in experimental allergic orchitis in guinea pigs
J. Reprod. Fert. 26:161 (1971)
- METALNIKOFF, S., : Etudes sur la spermatoxine. :
Ann. Inst. Pasteur, 14:577, (1900)
- METCHNIKOFF, E., : Etudes sur la resorption des cellules. : Ann. Inst. Pasteur 13:737,
(1899)
- NAGANO, T., OKUMURA, K. : Fine structural changes of allergic aspermatogenesis in the guinea pig II. Induced by the homologous parotid gland as antigen : Virch. Arch. Abt. Zellpath. 24:237
(1973)
- NAGANO, T., OKUMURA, K. : Fine structural changes of allergic aspermatogenesis in the guinea pig Virchows Arch. Abt. Zellpath. 14:223 (1973)
- NEILSON, E.G., McCAFFERTY, E., FELDMAN, A., CLAYMAN, M.D., ZAKHEIM, B., KORNGOLD, R.
Spontaneous interstitial nephritis in kdkd mice
J. Immunol. 133:2560 (1984)
- NYKÄNEN, M. : Fine strukture of the transitional zone of the rat seminiferous tubule
Cell. Tissue Res. 198:441 (1979)
- OLSEN S, BOHMAN S-O, PETERSEN VP: Ultrastructure of the glomerular basement membrane in long term renal allografts with transplant glomerular disease. Lab Invest 30: 176,1974

- PADMA, M.C., : Nature of the spermagglutinins in the normal serum of rabbits
Nature: New Biology 238:25 (1972)
- PFALTZ, M., HEDINGER, C.E. : Abnormal basement membran structures in autoimmune thyroid disease.
Lab. Invest. 55:531, (1986)
- PIERCE, G.B., NAKANE, P.K. : Antigens of epithelial basement membrans of mouse, rat and man
Lab. Invest. 17:499 (1967)
- POGORNA, Z. : Induction of experimental autoimmune aspermatogenesisby immune serum fractions
Folia Biol. 16:320 (1970)
- POKORNA, Z., VOJTISKOVA, M., RYCHLIKOVA, M., & CHUTNA, An isologous model of experimental autoimmune aspermatogenesis in mice. : Folia Biol. 9:203, (1963)
- POKORNA, Z.,: Induktion of autoimmune aspermatogenesis by noncellular cytophilic material. : Folia Biol. 15:173, (1969)
- RAPAPORT, F.T., SAMPATH, A., KANO, K., McCLUSKEY, R.T., MILGROM, F.,: Immunological effects of thermal injury : J. exp. Med. 130:1411 (1969)
- RE, M., BELLOCI, M., SPERA, G. : Morphological artefacts in biopsy spezimens of the testis
Experientia 25:323 (1969)
- ROITT, I.M. Leitfaden der Immunologie
Steinkopf Verlag Darmstadt 1984

- ROOSEN-RUNGE, E.C. : Kinetics of spermatogenesis in mammals : Ann. N.Y. Acad. Sci. 55:576 (1952)
- ROSS, M.H., GRANT, L. : On the structural integrity of basement membrane : Exp. Cell. Res. 50:277 (1968)
- RUDOFISKY, U.H. : Spontaneous and induced antibodies to renal and non-renal basement membranes in mice Clin. Immunol. Immunopathol. 15:200 (1980)
- RÜMKE, P. & TITUS, M. : Spermagglutinin formation in male rats by subcutaneously injected syngeneic epididymal spermatozoa and by vasoligation or vasektomy. : J. Reprod. Fertil. 21:69, (1970)
- RUSSELL, L. : Desmosome-like junctions between Sertoli and germ cells in the rat testis Am. J. Anat. 148:301 (1977)
- RUSSELL, L.D., CERLMONT, Y. : Degeneration of germ cells in normal, hypophysectomized and hormone treated hypophysectomized rats Anat. Rec. 187:347 (1977)
- RUSSELL, J., REITER, D. : The pineal gland and gonadal development in male rats and hamsters Fertil. Steril. 19:1009 (1968)
- RUSSELL, L. : Desmosome-like junctions between sertoli and germ cells in the rat : Am. J. Anat. 148:301 (1976)
- SACKLER, M.A., WELTMAN, A.S., PHAMDI, V., SCHWARTZ, Gonadal effects of vasectomy and vasoligation Science 179:293 (1973)

SAKAMOTO, Y., HIMENO, K., SANUI, H., YOSHIDA, S.,
NOMOTO, K. : Experimental orchitis in mice
I. A new model induced by immunisation without
adjuvants : *Cli. Immunol. Immunopath.* 37:360
(1985)

SAKAMOTO, Y., SANUI, H., YOSHIDA, S. NOMOTO, K.
Local passive transfer of delayed type hyper-
sensitivity to syngeneic testicular cells in
mice : *Clin. exp. Immunol.* 56:353 (1984)

SALOMON F, HEDINGER CHR E: Abnormal basement
membrane structures of seminiferous tubules in
infertile men. *Lab Invest* 47:543, 1982

SALOMON, F., SAREMASLANI, P., JAKOB, M., HEDINGER
Immune complex orchitis in infertile men
Lab. Invest. 47:555 (1982)

SANUI, H., YOSHIDA, S., HIMENO, K., NOMOTO, K.
Experimental allergic orchitis induced by uni-
lateral intratesticular bacterial infection in
guinea pigs : *Immunology* 49:45 (1983)

SATO, K., HIROKAWA, K., HATAKEYAMA, S. : Experimental
allergic orchitis in mice. Histopathological and-
immunological studies : *Virchows Arch.(path.Anat)*
392:147 (1981)

SIEW, S., JAMES, S.C., GILL, T.J., KUNZ, H.W. :
Application of ultrastructure in the
investigation of male infertility of the BIL/1
mutant : *Transpl. Proc.* XIII No.2 :1415 (1981)

- SIGNORE, A., POZZILI, P., PARMAN, A., ANDREANI, D.
 BEVERLEY, P.C. Detection of activated
 lymphocytes in endocrine pancreas of BB/W rats
 by Injektion of I-Interleukin-2: An early sign
 of typ 1 diabetes: Lancet 5 : 537 (1987)
- SMITH, G.: The effect of ligation of the vasa
 efferentia and vasectomy on testicular funktion
 in adult rat: . Endocrin. 23:385 (1962)
- TAGUCHI, O., NISHIZUKA, Y. : Experimental autoimmune
 orchitis after neonatal thymectomy in the mouse
 Clin. exp. Immunol. 46:425 (1981)
- TAKAMI, T., KUNZ, H.W., GILL, T.J., BIGAZZI, P.E. :
 Gentic control of autoantibody production to
 spermatozoa in vasectomized rats
 Amer. J. of Reprod. Immunol. 2:5 (1982)
- TEDDE, G., PALA, A.M., TEDDE PIRAS, A., GIUNTI, A.M.,
 SUCCI, A. : Structural and ultrastructural
 observations of the rats testicles in
 experimental allergic orchitis (1973)
- TEUSCHER, C., WILD, G.C., TUNG, K.S.K. : Experimental
 allergic orchitis : The isolation and partial
 characterization of an aspermtogenic polypeptide
 (AP3) with an apparent sequential disease-in-
 ducing determinant(s)
 J. Immunol. 130:2683 (1983)
- TEUSCHER, C. : Experimental allergic orchitis in mice
 Immunogenetics 22:417 (1985)
- TEUSCHER, C., WILD, C.G., TUNG, K.S.K. : Acrosomal
 autoantigens of guinea pig sperm
 J. Immunol. 130:317 (1983)

- TEUSCHER, C., SMITH, S., GOLDBERG, E., SHEARER, G.M.,
TUNG, K.S.K. : Experimental allergic orchitis
in mice. I. Genetic control of susceptibility
and resistance to induction of autoimmune
orchitis : Immunogenetics 22:323 (1985)
- THEMANN, H., ANDRADA, J.A., WIRTH, W., OELLIG, W.P.:
Ultrastructural studies on experimental
autoimmune orchitis
Beitr. path. Anat. 139:241 (1969)
- THEOFILOPOULOS, A.N. , DIXON, F.J. : Murine models
of systemic lupus erythematosus.
Adv. in Immunol. 37:269, (1985)
- TOULLET, F., CHADENIER, F., MAILLARD, J.L., VOISIN,
Cellular transfer of autoimmune aspermatogenic
orchiepididymitis (AIAO) by the i.v. route in
the guinea pig
Clin. exp. Immunol. 59:593 (1985)
- TOULLET, F., VOISIN, G.A. : Passive transfer of auto-
immune aspermatogenic orchiepididymitis (AIAO)
by antispermatozoa sera :
Clin. exp. Immunol. 26:549 (1976)
- TOULLET, F., VOISIN, G.A., NEMIROVSKI, M. :
Histo-immunchemical localization of three guinea
pig spermatozoa autoantigens : J. Immunol. 24:643
(1973)
- TUNG KSK, UNANUE ER, DIXON FJ: Pathogenesis of
experimental allergic orchitis. II. The role of
antibody. J Immunol 106:1463, 1971

- TUNG, K.S.K., TEUSCHER, C., MENG, A.L. : Autoimmunity to spermatozoa and the testis.
Immunological Rev. 55:217 (1981)
- TUNG KSK, ELLIS L, TEUSCHER C, MENG A, BLAUSTEIN JC, KOHNO S, HAWELL R: The black mink (*Mustela vison*): a natural model immunologic male infertility. J Exp Med 154:1016, 1981
- TUNG, K.S.K., UNANUE, E.R., DIXON, F.J.
Immunological events associated with immunisation by sperm in incomplete Freund's Adjuvant
Int. Arch. Allergy 41:565 (1971)
- TUNG, K.S.K., LEONG, C., MCCARTY, T., : Pathogenesis of experimental allergic orchitis III. T-lymphocyte requirement in local adoptive transfer by peritoneal exsudate cells.
J. Immunol. 118:1774 (1977)
- TUNG, K.S.K., ELLIS, L.E., CHILDS, G.V., DUFAY, W.
The dark mink : A model of male infertility
Endocrinology 114:922 (1984)
- TUNG, K.S.K., :Allergic orchitis lesions are adoptively transferred from vasoligated guinea pigs to syngeneic recipients : Science 201:833 (1978)
- TUNG, F.S., FRITS, I.B. : Autoimmune Orchitis can be induced by thymic lymphocytes autosensitized against syngeneic sertolicells in vitro
Biol. of Reprod. 30:979 (1984)
- TUNG, K.S.K., WOODROFFE, A.J., : Immunopathology of experimental allergic orchitis in the rabbit.
J. of Immunol. 120:320, (1978)

- TUNG, Y.S.K., ELLIS, L., TEUSCHER, C., MENG, A.,
BLAUSTEIN, J.C., KORMO, S., HOWELL, R.
The black mink (*Mustela vison*). A natural model
of immunologic male infertility
J. exp. Med. 154:1016 (1981)
- TUNG, Y.S.K., UDANUZ, Z.B., & DIXON, F.J. : The immun-
pathology of experimental allergic orchitis.
Amer. J. Path. 60:313, (1970)
- VOJTEKOVÁ, M., CHYTRÁ, J., RICHLIKOVÁ, M., POXORNA,
On the possible role of immunological tolerance
in the prevention of autoimmune spermatogenesis
Folia Biol. 8:207 (1962)
- VOZDIA, G.A., DELAUNAY, A., & BARBER, M., : Sur des
lésions testiculaires provoquées chez le cobaye
par la- et autogénéralisation. : *Ann. Inst.*
Pasteur 81:48, (1951)
- WAXMAN, S.H., : A histologic study of the auto-
allergic testis lesion in the guinea pig.
J. exp. Med. 109:311, (1959)
- WEYERHÉ, H. : Immunological T-cell memory in the in
vitro-induced experimental autoimmune orchitis
J. exp. Med. 147:233 (1978)
- WEYERHÉ, H., COHEN, I.B., FELDMAN, M. :
Belast-Toleranz und Autoimmunität *Deut. med.*
Wochenschrift 99 : 1734 (1974)
- WEYERHÉ, H. : In vitro induction of immunological
memory against testicular autoantigens
Nature 267:357 (1977)

WICK, G., BOYD, R., HALA, K., DE CARVALHO, L., KOFLER, R., MÜLLER, P.U., COLE, R.K.

The obese strain of chickens with spontaneous autoimmune thyroiditis: Review of recent data
Clin. exp. Immunol. 47:1 (1982)

WILLSON, J.T., JONES, N., KATSH, S.,

Induktion of aspermatogenesis by passive transfer of immune sera or cells

Int. Arch. Allergy 43:172 (1972)

WITKIN, S.S., ZELIKOVSKY, G., BONGIOVANNI, A.M.,

GELLER, N., GOOD, A. : Sperm-related antigens, antibodies, and circulating immune complexes in sera of recently vasectomized men

J. Clin. Invest. 33:40 (1982)

WOODROFFE, A.J., WILSON, C.B. : An evaluation of elution techniques in the study of immune complex glomerulonephritis. : J. of Immunology 118:1788, (1977)

YOSHIDA, S., NOMOTO, K., HIMENO, K., SANUI, H. :

Delayed hypersensitivity to syngeneic or xeno-geneic testicular cells in guinea-pigs

Immunology 42:445 (1981)

DANKSAGUNG

Herrn Prof. G.H. Thoenes danke ich für die Überlassung des Themas und seine Unterstützung.

Herrn Prof. G. Hübner und seinen Mitarbeiterinnen danke ich für die angenehme Zusammenarbeit.

Allen Mitarbeitern des Immunbiologischen Laboratoriums, besonders Herrn B. Eigner, Frau B. Hahn und Frau A. Zur, danke ich für die freundliche Unterstützung.

LEBENS LAUF

- 10.12.1953 geboren in München als 4. Kind von
Kurt Fürbeth, und seiner Ehefrau
Dr. Gudrun Fürbeth, geb. Heller
- 1960-1964 Besuch der Volksschule in München
- Juni 1974 Abitur am Pestalozzi-Gymnasium, München
- 1974-1976 Wehrdienst im Sanitätsbereich der
Bundeswehr
- 1979-1986 Medizinstudium an der Ludwig-
Maximilians-Universität München
- Dezember 1986 Ärztliche Prüfung und Approbation
- 1984-1988 Doktorand bei Prof. Dr. G. H.
Thoenes im Immunbiologischen Labor
der Med. Klinik Innenstadt der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

